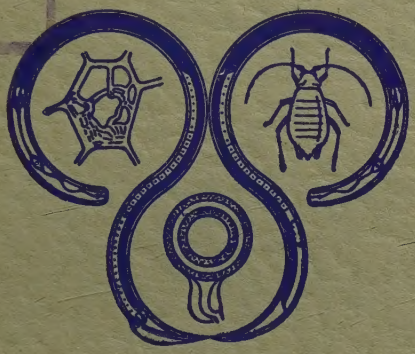
TIJDSCHRIFT OVER PLANTEZIEKTEN

COMMONWEALTH INST.
ENTOMOLOGY LIBRARY
17 OCT 1959
Eu.86

JAARGANG 65 - 1959

4e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN, Dr. H. H. EVENHUIS,
Dr. J. A. A. M. H. GOOSSENS, Prof. Dr. A. J. P. OORT,
Mevr. Ir. M. POST-BAKKER en Prof. Dr. J. P. H. VAN DER WANT (Secretaris)

Redactie-adres: Laboratorium voor Bloembollenonderzoek,
Heereweg 345*a*, Lisse

BESTUUR
VAN DE NEDERLANDSE PLANTEZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr. P. M. L. Tammes, Wageningen, *Voorzitter*
Ir. J. A. J. Veenenbos, Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen, *Secretaris*
Dr. A. P. Kole, Lab. v. Fytopathologie, Binnenhaven 4, Wageningen, *1e Penningmeester.* Postrekening no. 923165 ten name van Penningmeester van de Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen
Mevr. Ir. M. Post-Bakker, Lawickse Allee 80, Wageningen, *2e Penningmeesteresse*
H. P. Dijksterhuis, Garrelsweer
Dr. Ir. C. Mastenbroek, Hoofddorp
Prof. Dr. A. J. P. Oort, Wageningen
W. Tuin, Zuidwolde
Ir. J. Walrave, Wageningen

Lidmaatschap Ned. Planteziektenkundige Vereniging

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 7,50, België f 7,50, Buitenland f 8,50. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Suriname en de Nederlandse Antillen f 10,—, België f 10,—. Buitenland f 13,50 Betalingen op postrekening 923165 t.n.v. Penningmeester Ned. Planteziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing : ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Heereweg 345*a*, Lisse, tel. 3747, of tot H. Veenman & Zonen N.V. - Wageningen, tel. 2242.

INHOUD Blz.

IN MEMORIAM Ir. P. HUS 121

HOOFDARTIKELEN

H. H. EVENHUIS, D. MULDER en HILLEGONDA J. PFAELTZER – De overdracht van de rozetziekte, een virusziekte van de kers. *With a summary: The transmission of the "rozetziekte", a virus disease of cherry* 122

K. VERHOEFF – Pathogeniteitsverschillen tussen een aantal isolaties van *Verticillium albo-atrum. With a summary: Differences in pathogenicity between some isolates of* Verticillium albo-atrum 128

G. J. SAALTINK – Het uitwendig steriliseren van planten bij fytopathologisch onderzoek. *With a summary: External disinfection of plant parts* 138

A. J. P. OORT – Over de termen primair en secundair ziek in de fytopathologie. *With a summary: On the use of the terms "primair" and "secundair ziek" in plant pathology* . . 142

J. KORT en H. A. VAN RHEENEN – Enkele waarnemingen over het optreden van de verwelkingsziekte bij luzerne in Zeeland in 1957. *With a summary: Some observations on lucerne wilt disease in Zeeland in 1957* 147

KORTE MEDEDELING

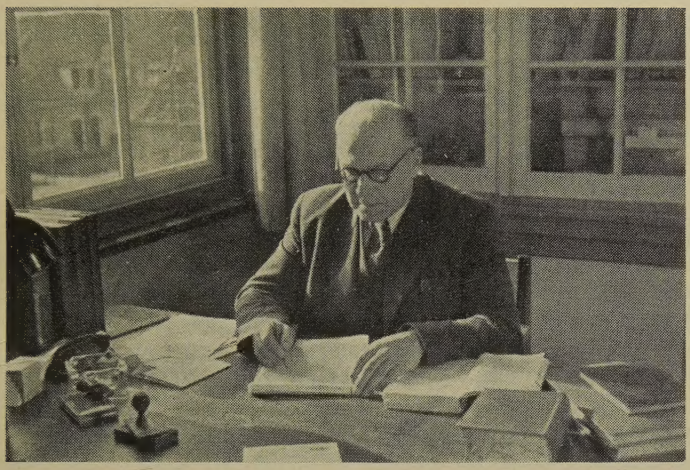
S. N. LIEM – *Cucumis virus* 2 in Nederland. *With a summary:* Cucumis virus *2 in The Netherlands* 158

VERENIGINGSNIEUWS 161

BOEKBESPREKINGEN 164

IN MEMORIAM

Ir. P. HUS



Op 1 augustus 1959 overleed te Bennekom Ir. PIETER HUS, op de leeftijd van 64 jaar, na een bijna 40-jarige ambtsperiode.

In 1919 werd Ir. HUS benoemd tot adspirant-Tuinbouwconsulent, spoedig gevolgd door een bevordering tot adjunct-Tuinbouwconsulent, resp. Tuinbouwconsulent.

In 1924 ging hij over naar de Plantenziektenkundige Dienst als fytopatholoog en deze functie vervulde hij tot 1942, in welk jaar zijn benoeming tot Rijkstuinbouwconsulent voor Plantenziekten plaats had.

In de eerste jaren van zijn loopbaan heeft Ir. HUS veel gewerkt aan *Phoma lingam* bij kool. In latere jaren is het vooral het fruit geweest dat zijn interesse had en de gehele opbouw van de bestrijding van ziekten en plagen bij fruit heeft hij van nabij meegemaakt en bevorderd. Zijn grote ervaring en technische kennis op het gebied van ziekten en plagen bij fruit zijn voor de Nederlandse fruitteelt van veel nut geweest. Hij was dan ook een bekende persoonlijkheid in de kringen van de fruittelers.

Gedurende vele jaren was Ir. HUS lid van de Redactie van ons Tijdschrift. Zij die hem kenden waardeerden hem niet alleen om zijn kennis, maar ook om zijn opgewektheid, die hij zelfs in tijden van tegenspoed wist te bewaren. Hij was een actief medewerker.

Verder had hij zitting in een groot aantal commissies, van verschillende waarvan hij voorzitter was.

Ir. HUS werd in 1957 benoemd tot Officier in de Orde van Oranje-Nassau.

T.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 122–127

DE OVERDRACHT VAN DE ROZETZIEKTE, EEN VIRUSZIEKTE VAN DE KERS[1]

With a summary:
The transmission of the "rozetziekte", a virus disease of cherry

DOOR

H. H. EVENHUIS, D. MULDER en HILLEGONDA J. PFAELTZER
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

INLEIDING

De rozetziekte werd voor Nederland beschreven door MULDER (1951) onder de naam Eckelraderziekte van de zoete kers. In Zwitserland staat deze ziekte bekend als Pfeffinger Krankheit. Er is voorgesteld om de ziekte naar één van zijn karakteristieke symptomen voortaan rozetziekte te noemen (PFAELTZER, 1959).

De ziekte is voornamelijk bekend van zoete kersen uit Zuid-Limburg, Noordbrabant en Zeeland. Ook meikersen en morellen kunnen worden aangetast; hieraan werden echter nog geen secundaire symptomen waargenomen.

In Zuid-Limburg breidt de ziekte zich steeds verder uit. Uit de praktijk zijn verschillende gegevens bekend geworden, die er op wijzen, dat de ziekte zich door de grond verspreidt. Als namelijk éénmaal een zieke boom in een kerseboomgaard wordt aangetroffen, vertonen veelal de aangrenzende bomen in de volgende jaren de ziekteverschijnselen en daarna vaak weer de hieraan grenzende bomen. Ook de resultaten van oriënterende proeven wezen op overbrenging door de grond (V. D. KROFT, 1958). Bij deze proeven traden eerst de primaire symptomen op (fig. 1), die overeenkomen met de symptomen, die in de U.S.A. beschreven werden als „rugose mosaic" (THOMAS & RAWLINS, 1951). Later verschenen ook de secundaire symptomen.

Op het terrein van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen werden in 1953 rondom een kers, die in ernstige mate door de rozetziekte was aangetast, een aantal onderstammen van kers F 12/1 geplant; in 1956 vertoonden enkele van deze boompjes symptomen van de ziekte.

In onze overbrengingsproeven met grond verschenen tot nu toe alleen de primaire symptomen, met één uitzondering, waarbij ook enaties werden waargenomen. Dit onderzoek[2] heeft zich gericht op de verschillende mogelijkheden van verspreiding; deze zullen hier worden beschreven. In de proeven werden zaailingen van Limburgse boskriek gebruikt en in sommige gevallen vegetatief vermeerderde F 12/1 onderstammen. De zaailingen werden gekweekt uit zaad van een gezonde, gekeurde moederboom.[3] Het is mogelijk, dat een gering percentage van de zaailingen was besmet met ringvlekkenvirus, maar uit

[1] Aangenomen voor publikatie 19 april 1959.
[2] Onze dank gaat uit naar de heer L. H. M. J. VAN CALDENBORGH, ambtenaar van de Plantenziektenkundige Dienst te Gronsveld, die door zijn onverflauwde belangstelling en activiteit een belangrijk aandeel had en heeft in de proeven in Limburg.
[3] Hierbij willen wij de Gebroeders SAES, boomkwekers te Nederweert (Limburg), bedanken voor het leveren van de kersepitten, afkomstig van een gekeurde, gezonde moederboom. Uit deze pitten werden de zaailingen gekweekt.

onze waarnemingen bleek, dat dit op de resultaten van de proeven geen invloed uitoefende.

ONDERZOEK NAAR DE VECTOREN VAN HET VIRUS

Uit verschillende werelddelen, vooral Noord-Amerika, zijn vele soorten cicaden – in het bijzonder *Jassidae* – bekend, die virusziekten van vruchtbomen – vooral van kers – kunnen overbrengen. Het bleek echter, dat in Nederland slechts een gering aantal soorten cicaden regelmatig op kers voorkomt en zich hierop voortplant (EVENHUIS, 1955). Deze soorten zijn in volgorde van veelvuldigheid van optreden: *Typhlocyba quercus* (F)., *Erythroneura alneti* (DHLB.), *E. flammigera* (GEOFFR.), *Empoasca flavescens* (F.) en *Eupteroidea stellulata* (BURM.), alle behorend tot de *Typhlocybinae*, in welke subfamilie van de *Jassidae* echter niet met zekerheid overbrengers van virussen bekend zijn (vgl. MÜLLER, 1956). In oriënterende overbrengingsproeven bleek inderdaad geen van deze soorten in staat te zijn het virus over te brengen.

De vier eerstgenoemde soorten treden veelal in grote aantallen op. Over het algemeen breiden virusziekten, die door insekten worden overgebracht, zich vrij snel uit. Men zou dan ook mogen verwachten, dat indien één of meer van de genoemde soorten het virus zouden overbrengen, de ziekte zich veel sneller zou verspreiden dan het geval blijkt te zijn.

In verband met de wijze van verspreiding en optreden in het veld werd nu gedacht aan één of meer overbrengers, die weliswaar niet regelmatig op kers voorkomen en er zich ook niet op kunnen ontwikkelen, maar die incidenteel wel eens op de kers kunnen worden aangetroffen en zich dan misschien ook op deze plant voeden. Deze soorten zouden dan afkomstig kunnen zijn van de onderbegroeiing of van de omringende bomen of struiken. Daarom werden in kerseboomgaarden in Limburg, waarin de ziekte veel optrad, cicaden en ook enkele andere insektesoorten met zuigende monddelen in de onderbegroeiing en de omringende boom- en struikvegetatie verzameld.

Enkele polyfage soorten bleken in staat te zijn zich gedurende lange tijd op kers te handhaven; deze soorten leverden voor de proefneming geen moeilijkheden op. Andere bleken het echter slechts gedurende korte tijd op kers te kunnen uithouden. Deze laatste groep was echter toch van bijzonder belang, omdat hiertoe de meeste *Jassidae* behoren, die in de kerseboomgaarden werden gevangen.

De te toetsen insekten werden eerst gedurende 1 tot 2 weken ingehoesd op een rozetzieke kers; daarna werden zij gedurende de overige tijd van hun leven op gezonde zaailingen van Limburgse boskriek gehouden. Bij de soorten, die slechts korte tijd op de kers kunnen leven, werd tevens een geschikte voedselplant mede in de kooi geplaatst (fig. 2 en 3). Voor de soorten, die in de grasmat waren gevangen, bleek straatgras (*Poa annua*) als voedselplant meestal goed te voldoen; voor de soorten, die op houtachtige gewassen werden gevangen, werd een afgesneden tak in een vaatje met water, waaraan 0,015 % SO_2 en 0,0085 % H_3PO_4 was toegevoegd, mede ingehoesd. De vaatjes konden, indien nodig, door een zijbuisje telkens opnieuw van water worden voorzien.

Niet alle cicaden waren in Limburgse boomgaarden gevangen; sommige individuen, die behoorden tot de soorten, die ook in Limburg voorkwamen, waren uit de omgeving van Wageningen afkomstig. Ook werden enkele overbrengingsproeven ingezet met soorten, die niet in Limburgse kerseboomgaarden werden aangetroffen.

De cicaden, die in Limburgse kerseboomgaarden met rozetziekte waren gevangen, werden soms direct op een proefplant gezet, omdat er werd verondersteld, dat sommige individuen reeds met het virus besmet zouden kunnen zijn.

Er werd nagegaan of de cicaden, die met een voedselplant waren ingehoesd, inderdaad op de twijgen, bladstelen of bladnerven van de kers zogen. Bij enkele soorten, o.a. van het geslacht *Euscelis*, bleek dit af en toe het geval te zijn.

In tabel 1 worden de soorten, waarmee overbrengingsproeven werden uitgevoerd, vermeld. De proefplanten werden in de zomerseizoenen van 1956 tot en met 1958 op het voorkomen van symptomen van de rozetziekte onderzocht; op geen van de proefplanten werd echter enig ziekteverschijnsel waargenomen.

In 1955 werden tevens in een proefserie enkele zaailingen van Limburgse boskriek geënt met een stukje bast van een zieke kers. De meeste van deze planten vertoonden reeds in 1956 symptomen van de rozetziekte; in totaal werden 29 van de 32 proefplanten ziek.

Eveneens werden in 1955 enkele zaailingen in bloempotten gezet, die gevuld waren met grond uit Limburgse boomgaarden, waarvan de kersen in ernstige mate door de rozetziekte waren aangetast. Van de 13 planten vertoonde er in 1956 nog geen enkel exemplaar enig ziektesymptoom; in 1957 gaven er vijf duidelijke symptomen te zien; in 1958 waren er zes ziek, terwijl er twee verdachte verschijnselen hadden.

In de jaren 1957 en 1958 werden in de periode van april tot oktober in een besmette proefboomgaard te Gronsveld (Zuid-Limburg) 10 zaailingen in potten, verspreid over het terrein, neergezet. Deze proefplanten werden telkens na ongeveer een maand door nieuwe vervangen. De oude werden dan naar Wageningen teruggebracht voor verdere observatie op symptoom-ontwikkeling. Indien immers later symptomen optreden, kan op deze wijze worden nagegaan in welke tijd de infectie heeft plaats gevonden. In 1958 waren aan de proefplanten van 1957 echter nog geen symptomen te zien.

Uit deze proeven kan worden besloten, dat het virus van de rozetziekte waarschijnlijk niet door een bovengronds insekt wordt overgebracht.

ANDERE WIJZEN VAN OVERDRACHT VAN HET VIRUS

Het virus kon worden overgebracht op gezonde bomen door enthout, door oculatie-materiaal of door bastenten. Er werd geen infectie verkregen, wanneer sap van zieke kersebladeren werd uitgewreven op de bladeren van gezonde kersen of geïnjiceerd in de stam van gezonde zaailingen. De ziekte wordt dus waarschijnlijk niet met snoeigereedschap verspreid.

OVERGAAN VAN HET VIRUS DOOR DE GROND

Behalve de oriënterende proeven, hierboven vermeld, werd in 1956 te Wageningen een twintigtal F 12/1-onderstammen geplant in grond, welke was aangevoerd uit een besmette boomgaard in Limburg. In 1958 vertoonden alle proefplanten in hevige mate de primaire symptomen.

In een proef in een kooi van kaasdoek te Wageningen, waarbij zaailingen in 1957 werden geplant in vaten, die met Limburgse grond uit een besmette boomgaard waren gevuld, bleek in 1958 een klein aantal de primaire symptomen te vertonen, terwijl later in de zomer enaties (één van de secundaire symptomen) aan enkele bladeren van twee zaailingen werden waargenomen.

TABEL 1. Overzicht van de in overdrachtsproeven gebruikte insekten.
Survey of the insects in the transmission experiments.

		Aantal proefdieren *Number of test insects*	Aantal proefplanten *Number of test plants*	Oecologische bijzonderheden * *Ecological facts* *
Jassidae	*Macrosteles* spec.	223	23	1
	Euscelis lineolatus BRULLÉ en *plebejus* (FALL).	829	81	1 vrij polyfaag, *rather polyphagous*
	Streptanus sordidus (ZETT.)	83	12	1
	Cicadula spec.	11	4	1
	Psammotettix spec.	7	2	2 op droge plaatsen *on dry places*
	Deltocephalus pulicaris (FALL.)	175	15	1
	Errastunus ocellaris (FALL.)	21	3	1
	Arthaldeus pascuellus (FALL.)	99	15	1
	Aphrodes bicinctus (SCHRANK)	224	47	3
	A. fuscofasciatus (GOEZE), *albifrons* (L.) en *flavostriatus* (DON.)	88	21	1 bij het grondoppervlak *at the ground level*
	Cicadella viridis (L.)	40	4	2, 3 op vochtige plaatsen *on moist places*
	Idiocerus spec.	±20	4	op populier *on poplar*
	Agallia consobrina CURT.	37	7	2, 3
	Oncopsis spec.	12	4	op haagbeuk *on hornbeam*
	Megophthalmus scanicus (FALL.)	17	3	2 op vrij droge plaatsen *on rather dry places*
	Macropsis fuscula (ZETT.)	32	7	2 op framboos *on raspberry*
Typhlocybinae	*Typhlocyba quercus* (F.)	±200	6	parenchymzuiger van kersebladeren *parenchym sucker of cherry leaves*
Cercopidea	*Cercopis sanguinea* GEOFFR.	19	13	2, 3
	Aphrophora alni (FALL.)	26	16	3
	Philaenus spumarius (L.)	93	16	3
	Neophilaenus spec.	11	2	2 op droge plaatsen *on dry places*
Delphacodidae	*Delphacinus mesomelas* (BOH.)	4	1	2 op droge plaatsen *on dry places*
	Dicranotropis hamata (BOH.)	1	1	1
	Delphacodes pellucida (F.) en *dubia* (KBM)	276	26	1
Psyllidae	*Psylla peregrina* FÖRST.	24	3	op meidoorn *on hawthorn*
Aphididae	*Myzus cerasi* (F.)	60	3	monofaag op kers *monophagous on cherry*

* 1 = in de kruidlaag in de kerseboomgaarden
on the herbs in cherry orchards
2 = niet in kerseboomgaarden gevangen
not in cherry orchards
3 = polyfaag, kan langdurig op kers leven
polyphagous, may live on cherry for a long time

In de proefboomgaard te Gronsveld werden zaailingen van Limburgse boskriek in 1957 in de grond geplant en onder drie kooien van kaasdoek en nylongaas geplaatst (drie planten in elke kooi). De grond in de kooien werd vrij van plantengroei gehouden. In 1958 bleken drie van de negen zaailingen de symptomen van de rozetziekte te vertonen. Er kan worden aangenomen, dat in dit geval overdracht door insekten boven de grond geen rol heeft gespeeld en dat het virus via de grond moet zijn overgegaan.

Men zou kunnen denken aan de aanwezigheid van een dierlijke vector in de grond. Dat dit zeer onwaarschijnlijk is, wordt door de volgende proef aangetoond.

In een bak met turfmolm werden enige potten met gezonde naast enige met door enten ziek gemaakte zaailingen van Limburgse boskriek gezet. De planten stonden in gestoomde grond en van de turfmolm kan worden aangenomen, dat zij vrij was van dierlijke organismen. De wortels van de zaailingen groeiden door de opening onder in de pot heen in de turfmolm. In het derde seizoen bleken verschillende van de oorspronkelijk gezonde planten de symptomen van de rozetziekte te vertonen. Het is niet waarschijnlijk, dat in dit geval een dierlijke vector een rol heeft gespeeld bij de overbrenging van het virus.

Een steun voor deze mening leverden ook proeven op, die in 1955 werden uitgevoerd. Aanvankelijk werd gemeend, dat zij overbrenging door cicaden bewezen (Jaarverslag I.P.O., 1955, blz. 60). De proefplanten hadden echter gezamenlijk in turfmolm gestaan en de wortels hadden zich hierin, via de opening onder in de pot, uitgebreid. Ook in dit geval moet worden aangenomen, dat overbrenging van het virus via de turfmolm heeft plaats gehad.

BESPREKING

In dit artikel werd er van uitgegaan, dat de rozetziekte van de kers slechts door één virus, het rozetvirus, wordt veroorzaakt. De mogelijkheid, dat een complex van virussen de ziekte teweeg brengt, is echter niet uitgesloten.

Uit de beschreven proeven kan worden geconcludeerd, dat het virus van de rozetziekte van kers op de volgende manieren kan worden overgebracht: 1. door enten en oculeren, 2. door de grond. In dit laatste geval moeten wij aannemen, dat het virus op de een of andere wijze door de wortels wordt opgenomen; er zijn geen aanwijzingen, dat hierbij een dierlijke vector zou zijn betrokken. Eveneens is het onwaarschijnlijk, dat het virus door een bovengronds levende insektevector wordt overgebracht; een mechanische overdracht via snoeigereedschap is niet waarschijnlijk.

De door BLUMER (1956) veronderstelde overbrenging ten gevolge van wortelcontact is niet door hem bewezen; de resultaten van zijn proeven kunnen even goed door overbrenging via de grond worden verklaard.

Voor de verspreiding van het virus in Zuid-Limburg zijn derhalve twee factoren van belang: 1. het invoeren van met zieke enten veredelde bomen en van ziek enthout; 2. uitbreiding door de grond.

SUMMARY

The "rozetziekte" of cherry (= Eckelrade disease = Pfeffinger Krankheit) occurs in The Netherlands in the provinces of Limburg, Noordbrabant and

FIG. 1. Primaire symptomen van de rozetziekte aan bladeren van een zaailing van Limburgse boskriek.
Primary symptoms of the "rozetziekte" on leaves of a sweet cherry seedling.

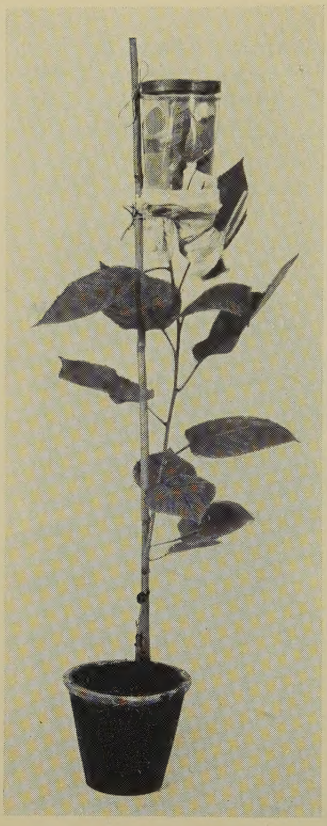


FIG. 2. Proefopstelling voor het overbrengen van de rozetziekte door insekten, die slechts korte tijd op kers kunnen leven.

Experiment for the transmission of the "rozetziekte" by insects, that are able to live on cherry for a short time only.

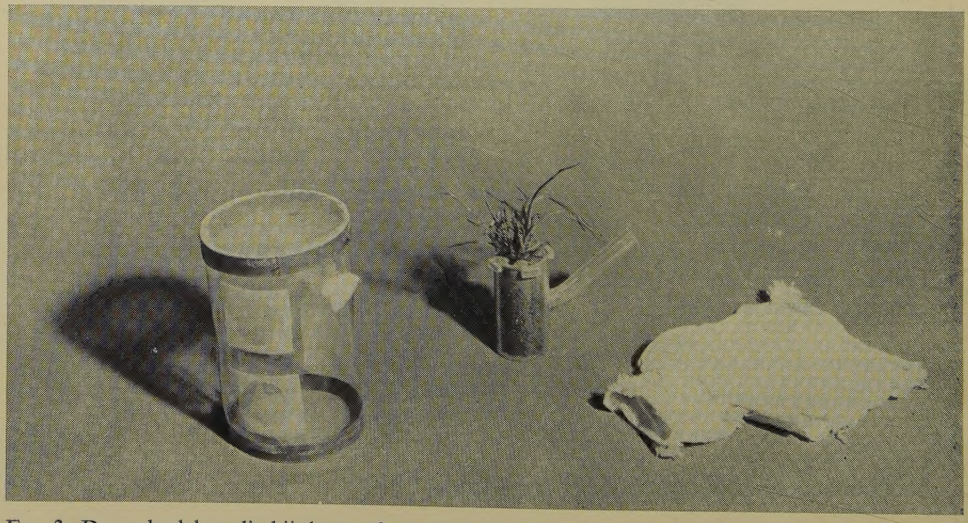


FIG. 3. De onderdelen, die bij de proefopstelling van fig. 2 zijn gebruikt: kooitje, vaatje met voedselplant en kaasdoek voor de afsluiting.

Accessories in the experiment of fig. 2: cage, small cask with food plant and cheese cloth which is used for the enclosure.

Zeeland. In Limburg it is spreading every year. In experiments (fig. 2 and 3) it was not transmitted by insects (table 1), nor by mechanical means (rubbing juice of diseased plants on leaves of healthy plants or injecting it into the stems of healthy plants). In other experiments the virus was transmitted through the soil. Healthy seedlings of sweet cherries were planted in cages in soil from an orchard where the disease occurs. The following year some of them showed primary symptoms (fig. 1) of the disease and two plants showed some secondary symptoms (enations).

From these experiments it may be concluded, that the virus of the "rozetziekte" is soil-borne.

LITERATUUR

Blumer, S., – 1956. The present aspect of fruittree virus diseases in Switserland. T. Pl.-ziekten 62: 67–69.

Evenhuis, H. H., – 1955. Over de cicadellidenfauna van de kers. T. Pl.-ziekten 61: 56–59.

Kroft, W. G. van der, – 1958. Het probleem van de virusziekte bij de kerseteelt in Zuid-Limburg. Fruitteelt 48: 89.

Mulder, D., – 1951. De Eckelrader virusziekte van zoete kersen. Meded. Directeur Tuinb. 14: 217–228.

Müller, H. J., – 1956. Homoptera, Auchenorrhyncha Dum. Zikaden in: Sorauer, Handb. Pfl.–Krh. Bd. V, 5. Aufl., 3. Lfg., Berlin u. Hamburg: 150–306.

Pfaeltzer, H. J., – 1959. Onderzoekingen over de rozetziekte van de kers. T. Pl.-ziekten 65: 5–12.

Thomas, H. E. & T. E. Rawlins, – 1951. Cherry rugose mosaic in: Virus diseases and other disorders with viruslike symptoms. Handbook of Agriculture No. 10. U.S.D.A.: 139–140.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 128–137

PATHOGENITEITSVERSCHILLEN TUSSEN EEN AANTAL ISOLATIES VAN *VERTICILLIUM ALBO-ATRUM*[1]

With a summary: Differences in Pathogenicity between some isolates of Verticillium albo-atrum

DOOR

K. VERHOEFF

Proefstation voor de Groenten- en Fruitteelt onder Glas, Naaldwijk

INLEIDING

Aantastingen van verschillende, onder glas geteelde gewassen, door *Verticillium* zijn reeds lang bekend en in de praktijk worden hiertegen de nodige maatregelen genomen. Pas de laatste jaren is gebleken, dat er tussen diverse isolaties van *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH. een pathogeniteitsverschil kan bestaan ten opzichte van verschillende gewassen. In sommige gevallen blijkt een bepaalde isolatie specifiek pathogeen te zijn voor een bepaalde waardplant, bijvoorbeeld een isolatie uit spruitkool, die alleen voor dit gewas pathogeen is (ISAAC, 1957). Soms is van een dergelijke specificiteit weinig sprake; zo kon b.v. een isolatie uit *Mentha piperita* L. ook andere gewassen aantasten (HORNER, 1954; THOMAS & WEBB, 1956).

Voor een aantal isolaties, op een enkele uitzondering na afkomstig van onder glas geteelde gewassen, is de pathogeniteit op een reeks gewassen nagegaan. Hierbij is ook een tegen *Verticillium* resistente tomaat (tomaat V.R.) betrokken, omdat bij entproeven op dit ras als onderstam soms een sterke inwendige bruinkleuring optreedt, die vermoedelijk een gevolg is van een aantasting door *Verticillium*.

MATERIAAL EN METHODIEK

Voor het verkrijgen van verschillende isolaties van deze schimmel werd in de praktijk ziek materiaal verzameld. De onderste stengeldelen hiervan werden in stukjes gesneden, gewassen en ontsmet. De ontsmetting geschiedde door de stukjes achtereenvolgens te dompelen in alcohol 70 % (10 sec.), sublimaat 1 % (15 sec.) en alcohol 70 % (10 sec.). Daarna werden de stukjes geflambeerd, schuin overlangs doorgesneden en in petrischalen op kersagar uitgelegd. De verschillende isolaties werden op kersagar bij 21 °C in stand gehouden. In tabel 1 zijn de gegevens van deze isolaties vermeld. Overeenkomstig het werk van VAN DEN ENDE (1958) worden deze als vormen van *Verticillium alboatrum* REINKE & BERTH. beschouwd, waarbij drie typen te onderscheiden zijn, nl. het type met microsclerotiën (M), het type met donker mycelium (D) en het type zonder deze vormen van „ruststadia" (H).

De gewassen, die als toetsplanten in de proeven zijn gebruikt zijn vermeld in tabel 2. De planten werden geïnoculeerd als het eerste echte blad zichtbaar werd. Bij het inoculeren van chrysanten werden ongeveer 8 cm lange, bewortelde

[1] Aangenomen voor publikatie 16 mei 1959.

TABEL 1. De in de proeven gebruikte *Verticillium*-isolaties.
The Verticillium *isolaties, used in the experiments.*

No.	Geïsoleerd uit / *Isolated from*	Plaats van herkomst *Place of origin*	Type
1	witlof (*Cichorium intybus* L.)	Deventer [1]	M [3]
2	tomaat (*Lycopersicum esculentum* L.)	Naaldwijk	H [4]
3	tomaat	Naaldwijk	H
4	tomaat	's-Gravenzande	M
5	chrysant (*Chrysanthemum*)	Naaldwijk	M
6	aardbei (*Fragaria* spec. hybr.)	Berkeley, California [2]	D [5]
7	aardbei	Berkeley, California [2]	D
8	tomaat	Poeldijk	M
9	spaanse peper (*Capsicum annuum* L.)	Naaldwijk	M
10	aubergine (*Solanum melongena* L.)	Poeldijk	D
11	aubergine	Poeldijk	M
12	aubergine	Poeldijk	M
13	aubergine	Poeldijk	M
14	chrysant	's-Gravenzande	D
15	chrysant	Poeldijk	H
16	chrysant	Naaldwijk	M
17	tomaat	Berkel	M
18	komkommer (*Cucumis sativus* L.)	Delft	M

[1] Ontvangen van Mevr. Ir. M. POST-BAKKER, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen.
[2] *Received from Dr. St. Wilhelm, Dept. Pl. Pathology, Univ. of Calif.*
[3] M = microsclerotium type / *microsclerotial type.*
[4] H = hyaliene type / *hyaline type.*
[5] D = donker mycelium type / *dark hyphal type.*

TABEL 2. De gewassen, waarop de verschillende isolaties zijn getoetst.
The plants, upon which the different isolates were tested.

Gewas / *Crop*		Ras / *Variety*
Andijvie	*Cichorium endivia* L.	no. 5
Aubergine	*Solanum melongena* L.	Lange Violette
Chrysant	*Chrysanthemum* spec.	Lady Electra
Komkommer	*Cucumis sativus* L.	Groene Standaard
Meloen	*Cucumis melo* L.	Westl. Enkele Net
Paprika	*Capsicum frutescens* L.	
Sla	*Lactua sativa* var. *capitata*	Proeftuins Blackpool
Spaanse peper	*Capsicum annuum* L.	
Tomaat	*Lycopersicum esculentum* L.	Ailsa Craig (A.C.)
Tomaat	*Lycopersicum esculentum* L.	Moscow type, VR 11[1] (V.R.)

[1] Tegen *Verticillium* resistent ras. / *Variety resistent against* Verticillium.

stekken gebruikt. De inoculatie geschiedde door de wortels van de planten 10 minuten in een sporensuspensie te brengen. Deze sporensuspensie werd verkregen door vier buizen met vier tot vijf weken oude cultures van de desbetreffende isolatie te schudden met water, waaraan uitvloeier was toegevoegd. De controleplanten werden met hun wortels in een gelijke hoeveelheid water met uitvloeier geplaatst. De planten werden daarna in gestoomde grond opgepot en in de kas gezet. Per gewas werden per schimmelisolatie twintig planten getoetst. Voor

elke isolatie is dit minstens twee keer gebeurd. De duur van elke proef was gewoonlijk zes weken; waren er in deze periode weinig of geen symptomen opgetreden, dan werd de proef tot ongeveer 12 weken verlengd. Aan het einde ervan werden de onderste stengeldelen op aanwezigheid van *Verticillium* gecontroleerd (ontsmetten en uitleggen als beschreven voor het isoleren van *Verticillium* uit praktijkmateriaal).

De proeven werden voor alle gewassen genomen in een, voor de praktijk normale teeltperiode, d.i. voor andijvie, sla en chrysant in de herfst, voor de overige gewassen in het voorjaar en de zomer. Met aubergine, komkommer, meloen en tomaat (A.C.) werden bovendien proeven genomen in een voor deze gewassen veel ongunstiger periode, nl. in de herfst. Dit werd gedaan om een eventueel verband te kunnen leggen tussen de snelheid van groei en ontwikkeling van de planten en de gevolgen van een aantasting door *Verticillium*.

RESULTATEN

De symptomen, die bij de proeven optraden, kunnen in vijf groepen ingedeeld worden, te weten:

a. Achterblijven in ontwikkeling in vergelijking tot de controleplanten.
b. Geelkleuren en afvallen van de cotylen, vaak gevolgd door geelkleuren van de onderste bladeren.
c. Als *b*, met geelkleuren, verwelken en afsterven, eerst van de onderste bladeren, daarna ook van jongere bladeren, soms leidend tot een geheel afsterven van de plant.
d. Vorming van adventiefwortels, juist boven het grondoppervlak.
e. Inwendige bruinkleuring.

De reacties van de gewassen aubergine, meloen, paprika, Spaanse peper en tomaat A.C. ten opzichte van de verschillende isolaties liepen sterker uiteen dan die van de gewassen andijvie, chrysant, komkommer, sla en tomaat V.R.

De resultaten van de proeven zijn als volgt:

Aubergine. Alle isolaties verwekten groeiremming, bladsymptomen en inwendige bruinkleuring, zij konden ook alle opnieuw worden geïsoleerd. De isolaties 3, 4 en 8 (van tomaat) 11, 12 en 13 (van aubergine) en 16 (van chrysant) deden de planten ongeveer 6 weken na de inoculatie afsterven.

Meloen. Alleen de isolaties 2 en 17 (van tomaat), 5, 15 en 16 (van chrysant), 9 (van Spaanse peper) en 18 (van komkommer) verwekten symptomen op dit gewas. De isolaties uit chrysant en isolatie 17 (van tomaat) verwekten een geringe groeiremming en zwakke bladsymptomen. Daarentegen deden de isolaties 2 (van tomaat), 9 (van Spaanse peper) en 18 (van komkommer) de planten ongeveer 5 weken na de inoculatie afsterven.

Behalve de genoemde isolaties konden ook de isolaties 1 (van witlof), 3, 4 en 8 (van tomaat), 7 (van aardbei) en 10 en 11 (van aubergine) opnieuw geïsoleerd worden.

Paprika. Op dit gewas verwekten alleen de isolaties 2, 3 en 8 (van tomaat) en 14, 15 en 16 (van chrysant) zwakke symptomen, nl. een geringe groeiremming, gepaard gaande met zwakke bladsymptomen. Behalve de genoemde isolaties konden ook de isolaties 4 (van tomaat), 7 (van aardbei) en 18 (van komkommer) opnieuw geïsoleerd worden.

Spaanse peper. Alleen de isolaties 2 (van tomaat) en 9 (van Spaanse peper) verwekten sterke groeiremming, matige bladsymptomen en inwendige bruinkleuring. De isolaties 5 (van chrysant), 6 (van aardbei), 10 (van aubergine) en 18 (van komkommer) verwekten zwakke groeiremming en geringe bladsymptomen. Behalve de genoemde isolaties konden ook de isolaties 3, 4, 8 en 17 (van tomaat), 7 (van aardbei), 11 en 13 (van aubergine) en 14 en 15 (van chrysant) opnieuw geïsoleerd worden.

Tomaat A.C. Op dit gewas verwekten de isolaties 3, 4, 8 en 17 (van tomaat) ernstige groeiremming, sterke bladsymptomen en sterke inwendige bruinkleuring. Ditzelfde geldt voor de isolaties 10, 11, 12 en 13 (van aubergine). De isolaties 8, 12 en 13 deden de planten ongeveer 6 weken na de inoculatie afsterven. Zwakke symptomen verwekten de isolaties 2 (van tomaat), 7 (van aardbei) en 16 (van chrysant). De isolaties 1 (van witlof), 5 en 15 (van chrysant), 6 (van aardbei), 9 (van Spaanse peper) en 18 (van komkommer) verwekten in het geheel geen symptomen. Behalve de isolaties 1, 6 en 15 (respectievelijk van witlof, aardbei en chrysant) konden alle isolaties opnieuw geïsoleerd worden.

Andijvie. Na inoculatie met isolatie 1 (van witlof) kleurden de buitenste bladeren lichtgeel, terwijl de voet van de planten inwendig bruin gekleurd was. Herisolatie was mogelijk. Met de overige isolaties konden geen symptomen worden opgewekt; ook konden deze niet opnieuw worden geïsoleerd.

Chrysant. Tot 14 weken na de inoculatie werden geen uitwendige symptomen waargenomen. Een lichte bruinkleuring werd na verloop van deze periode aangetroffen in de planten, geïnoculeerd met isolatie 5 (van chrysant). Deze isolatie en de isolaties 2, 8 en 17 (van tomaat) en 14, 15 en 16 (van chrysant) konden opnieuw worden geïsoleerd.

Komkommer. Vijf tot zes weken na de inoculatie met de isolaties 2 (van tomaat), 9 (van Spaanse peper) en 18 (van komkommer) waren alle planten afgestorven. Deze drie isolaties en de isolaties 1, 8, 11 en 16 (respectievelijk van witlof, tomaat, aubergine en chrysant konden opnieuw geïsoleerd worden.

Sla. Voor dit gewas geldt hetzelfde als gezegd is voor andijvie. Zes weken na inoculatie met isolatie 1 (van witlof) ontstond een zwakke inwendige bruinkleuring. Herisolaties gelukten niet.

Tomaat, V.R. Zeven weken na de inoculatie ontstonden geel gekleurde cotylen bij de planten, geïnoculeerd met isolatie 2 (van tomaat). De overige isolaties konden tot 10 weken na de inoculatie geen symptomen opwekken. De isolaties 2, 8 en 17 (van tomaat), 11 (van aubergine) en 15 (van chrysant) konden opnieuw geïsoleerd worden, hoewel slechts uit enkele planten van elke groep.

De resultaten van de proeven zijn in tabel 3 kort samengevat.

BESPREKING VAN DE RESULTATEN

Wat de gevoeligheid voor *Verticillium* betreft, zouden de hier gebruikte gewassen in drie groepen kunnen worden ingedeeld.

De eerste groep bestaat dan uit de gewassen andijvie, chrysant, paprika, sla, Spaanse peper en tomaat V.R. Deze gewassen reageerden over het algemeen zwak of in het geheel niet, hoewel herisolaties van verschillende isolaties mogelijk waren. Voor de gewassen andijvie en sla dient hierbij te worden opgemerkt, dat het niet slagen in het maken van meer herisolaties ook te wijten kan zijn aan

TABEL 3. Vergelijking van de isolaties in hun acties op de verschillende gewassen
Comparison of the isolates in their actions upon the different crops.

Isolatie nummer *Isolate no.*	Gewas / *Crop*																																
	andijvie *endive*			aubergine *eggplant*			chrysant *chrysanthemum*			komkommer *cucumber*			meloen *melon*			paprika *sweet pepper*			sla *lettuce*			Spaanse peper *pepper*			tomaat A.C. *tomato*			tomaat V.R. *tomato*				
	Z[1]	B[2]	H[4]	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H	Z	B	H		
1 (witlof, *witloof cichory*)	2[3]	1	+	4	3	+	0	0	–	0	0	+	0	0	+	0	0	–	0	1	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–		
2 (tomaat, *tomato*)	0	0	–	2	1	+	0	0	+	5	1	+	3	1	+	0[6]	1	+	0	0	–	1	2	+	2	1	+	0	0	+		
3 (tomaat, *tomato*)	0	0	–	5	3	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	0[6]	0	+	0	0	–	0	0	+	3	3	+	0	0	–		
4 (tomaat, *tomato*)	0	0	–	5	3	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	0[6]	0	+	0	0	–	0	0	+	4	3	+	0	0	–		
5 (Chrysanthemum)	0	0	–	3	2	+	1[5]	1	+	0	0	–	1	0	+	0	0	–	0	0	–	1	0	+	0	0	+	0	0	–		
6 (aardbei, *strawberry*)	0	0	–	2	1	+	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–	1	0	+	0	0	–	0	0	–		
7 (aardbei, *strawberry*)	0	0	–	3	2	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	0	0	+	0	0	–	1	0	+	2	2	+	0	0	–		
8 (tomaat, *tomato*)	0	0	–	5	3	+	0	0	+	0	0	+	1	0	+	1	0	+	0	0	–	0	0	+	5	3	+	0	0	+		
9 (Spaanse peper, *pepper*)	0	0	–	2	0	+	0	0	–	5	1	+	5	1	+	0	0	–	0	0	–	3	2	+	0	0	+	0	0	–		
10 (aubergine, *eggplant*)	0	0	–	3	2	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	0	0	–	0	0	–	0[6]	0	+	3	3	+	0	0	–		
11 (aubergine, *eggplant*)	0	0	–	5	3	+	0	0	–	0	0	+	0	0	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	3	3	+	0	0	+		
12 (aubergine, *eggplant*)	0	0	–	5	3	+	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–	0	0	–	5	3	+	0	0	–		
13 (aubergine, *eggplant*)	0	0	–	5	3	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	5	3	+	0	0	–		
14 (Chrysanthemum)	0	0	–	4	3	+	0	1	+	0	0	–	1	0	+	1	1	+	0	0	–	0	0	+	3	1	+	0	0	–		
15 (Chrysanthemum)	0	0	–	3	3	+	0	1	+	0	0	–	1	0	+	1	1	+	0	0	–	0	0	+	0	0	–	0	0	+		
16 (Chrysanthemum)	0	0	–	5	3	+	0	1	+	0	0	+	1	0	+	0[6]	0	+	0	0	–	0	0	–	2	0	+	0	0	–		
17 (tomaat, *tomato*)	0	0	–	4	3	+	0	0	+	0	0	–	0	0	+	0	0	–	0	0	–	0	0	+	5	3	+	0	0	+		
18 (komkommer, *cucumber*)	0	0	–	3	2	+	0	0	–	5	1	+	5	1	+	0	0	+	0	0	–	1	0	+	0	0	+	0	0	–		

[1] Ziektebeeld / *symptoms*
[2] Groeiremming en bladsymptomen (0 = geen, 5 = tot en met afsterven van de planten)
Growth inhibition and leaf symptoms (0 = no symptoms, 5 = including dying of the plants)
[3] Inwendige bruinkleuring (0 = geen, 3 = sterke bruinkleuring) / *Internal browning (0 = no internal browning, 3 = strong internal browning)*
[4] Herisolatie (+ of –) / *reisolation (+ or –)*
[5] Alleen bladsymptomen / *only leaf symptoms*
[6] Alleen groeiremming / *only growth inhibition*

de isolatietechniek. Bij deze twee gewassen trad nl. veel verontreiniging met bacteriën op.

De tweede groep bestaat uit het gewas komkommer, dat op slechts enkele isolaties reageerde, maar dan zo heftig, dat de planten snel afstierven.

De derde groep is eigenlijk een tussengroep. Deze wordt gevormd door de gewassen aubergine, tomaat A.C. en meloen. Diverse isolaties verwekken symptomen; enkele ervan deden de planten afsterven.

Bij vergelijking van de isolaties onderling blijkt, dat isolatie 1 (van witlof) alleen op andijvie, aubergine en sla symptomen veroorzaakt. Van de eerste twee gewassen en van komkommer en meloen konden herisolaties gemaakt worden. Het blijkt, dat van een enge specialisatie van isolatie 1 geen sprake is.

Bij de isolaties 2, 3, 4, 8 en 17, afkomstig van tomaat, blijkt ook weinig sprake van een enge specialisatie te zijn. De isolaties 3, 4, 8 en 17 verschillen vrijwel niet wat betreft de reacties die deze op de verschillende waardplanten verwekken, 8 en 17 schijnen iets pathogener te zijn. Behalve bij sla en andijvie konden van deze isolaties uit alle getoetste gewassen herisolaties gemaakt worden. Het meest pathogeen zijn zij echter voor tomaat A.C. en aubergine. Isolatie 2 van tomaat valt in deze uit de toon. Gezien de grote pathogeniteit van deze isolatie ten aanzien van komkommer en meloen en de mindere pathogeniteit met betrekking tot aubergine en tomaat A.C. lijkt het erop, alsof deze per toeval uit tomaat is geïsoleerd, maar op een ander gewas „thuishoort", b.v. komkommer of meloen.

De isolaties uit chrysant (5, 14, 15 en 16) verschillen onderling in pathogeniteit; van alle vier konden herisolaties gemaakt worden uit aubergine, chrysant en meloen; van drie van de vier uit tomaat A.C., Spaanse peper en paprika, terwijl van isolatie 16 uit komkommer en van isolatie 15 uit de tomaat V.R. herisolaties gelukten. Geïnoculeerd op tomaat A.C., konden de isolaties 14 en 16 wel, 5 en 15 geen symptomen opwekken. Ook ten opzichte van aubergine blijken 14 en 16 het meest pathogeen. Het kan niet gezegd worden, dat deze isolaties minder pathogeen zijn op het gewas van herkomst dan op andere gewassen, daar bij de proeven bewortelde stekken werden geïnoculeerd en de ouderdom van de planten ten tijde van de inoculatie een rol speelt, o.a. in de mate, waarin symptomen optreden.

De isolaties uit aardbei (6 en 7) blijken op tomaat A.C. duidelijk in pathogeniteit te verschillen. Van isolatie 7 konden bovendien nog herisolaties gemaakt worden uit meloen en paprika, waaruit isolatie 6 niet opnieuw kon worden geïsoleerd.

De isolatie uit Spaanse peper blijkt het meest pathogeen ten aanzien van komkommer en meloen; ten opzichte van het gewas van herkomst en aubergine blijkt deze minder pathogeen, hoewel deze isolatie ten opzichte van Spaanse peper duidelijk pathogener was dan alle andere isolaties.

De isolaties uit aubergine (10, 11, 12 en 13) blijken onderling niet veel in pathogeniteit te verschillen. Isolatie 11 is misschien iets pathogener, omdat hiervan uit komkommer en tomaat V.R. herisolaties gemaakt konden worden, waar de andere drie niet waren uit te halen. Ook hier bestaat de grootste pathogeniteit met betrekking tot het gewas van herkomst. Er blijkt veel overeenkomst te bestaan tussen de isolaties uit tomaat en die uit aubergine.

De isolatie uit komkommer (18) blijkt het meest pathogeen te zijn op komkommer en meloen. Op aubergine en Spaanse peper werden evenwel ook symp-

tomen opgewekt. Bovendien konden behalve uit de genoemde gewassen herisolaties gemaakt worden uit paprika en tomaat A.C.

De isolaties bezitten over het geheel dus wel de grootste pathogeniteit ten opzichte van het gewas van herkomst en verwante gewassen, maar een strenge specialisatie daarop is niet aanwezig.

Gedurende de herfst en winter van 1957–1958 werden de verschillende isolaties getoetst op aubergine, komkommer, meloen en tomaat A.C. De resultaten waren in principe hetzelfde als bij de proeven, welke in het voorjaar en in de zomer werden genomen, maar wel was er een gradueel verschil. Tomaatplanten A.C., geïnoculeerd met isolatie 4 (van tomaat) stierven nu vijf weken na de inoculatie af (in het voorjaar en in de zomer nog niet na zeven weken). Ditzelfde geldt voor de isolaties 10 en 11 (van aubergine). Aubergineplanten, geïnoculeerd met de isolaties 10 en 17 (respectievelijk van aubergine en tomaat) stierven nu na zes weken af (in het voorjaar en in de zomer pas na acht tot negen weken). Bij komkommer en meloen trad een dergelijke versterking van de reacties op. Zo stierven komkommers, geïnoculeerd met de isolaties 2 of 18 (respectievelijk van tomaat en komkommer) nu twee tot drie weken na de inoculatie af (in het voorjaar en in de zomer na vijf tot zes weken). Het blijkt dus, dat de gevolgen van een aantasting door *Verticillium* des te groter zijn, naarmate de ontwikkelingsmogelijkheden van de plant geringer zijn. Hoewel bij deze proeven een, zij het gering, verschil in bodemtemperatuur aanwezig was, zal ook de lichtinvloed van betekenis zijn geweest (minder licht, minder wortelvorming). Dat het wortelstelsel een rol speelt blijkt in de praktijk. De gevolgen van „slaapziekte" zijn op gronden met een slechte structuur ernstiger dan op gronden met een goede structuur.

Ook de grootte van de planten ten tijde van de inoculatie speelt een rol. Uit proeven, genomen met tomaatplanten A.C. van verschillende ouderdom blijkt, dat het langer duurt voordat uitwendige symptomen optreden, naarmate de planten ouder zijn bij de inoculatie. Mogelijk is dit een oorzaak voor het niet of zwak reageren van de chrysant op de chrysantenisolaties. Bij oudere planten treedt veelal echte verwelking op, bij jongere planten is deze vaak minder duidelijk, de eerste symptomen zijn dan veelal het achterblijven in groei en het geel kleuren en afvallen van de cotylen.

Het herisoleren van de verschillende isolaties uit de tomaat V.R. slaagt slechts matig. Van de twintig planten kon na twaalf weken slechts uit twee planten isolatie 2 (van tomaat) opnieuw geïsoleerd worden. Voor isolatie 8 (van tomaat) gelukte dit uit vier planten. Ook de andere herisolaties slaagden slechts uit een gering aantal planten van elke groep. Uit lopende proeven blijkt echter,dat na verloop van langere tijd uit meer planten *Verticillium* opnieuw geïsoleerd kan worden en ook van meer isolaties, nl. 3 en 4 (van tomaat) en 10 (van aubergine). Bij dit gewas kost het de schimmel klaarblijkelijk meer tijd, om de onderste stengeldelen te bereiken.

SAMENVATTING

Een aantal isolaties van *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH. werd op verschillende, onder glas geteelde gewassen getoetst. Het doel was om na te gaan of bij diverse isolaties van deze schimmel specialisatie bestaat en of tussen deze isolaties een pathogeniteitsverschil aanwezig is.

Uit de inoculatieproeven komt naar voren, dat bij de gebruikte isolaties niet

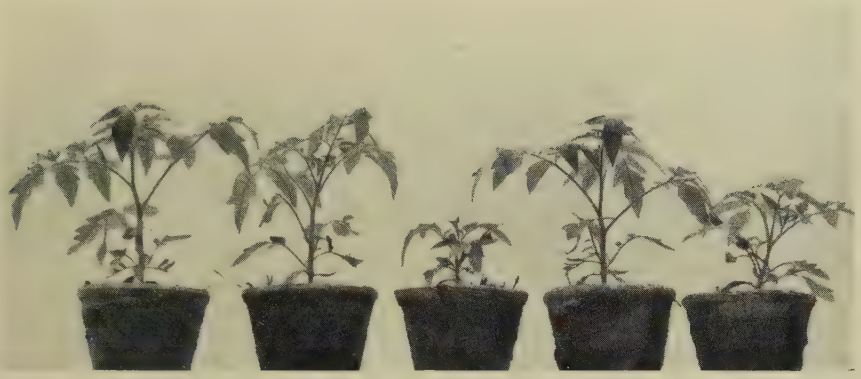


FIG. 1. Tomaatplanten, geïnoculeerd met de *Verticillium*-isolaties uit chrysant, 5 weken na de inoculatie. Van links naar rechts controle en geïnoculeerd met resp. de isolaties 5, 14, 15 en 16.

Tomatoes, inoculated with the Verticillium *isolates from chrysanthemum, 5 weeks after the inoculation. From left to right control and inoculated with the isolates 5, 14, 15 and 16 respectively.*

FIG. 2. Komkommerplanten, 16 dagen na de inoculatie. Van links naar rechts controle en geïnoculeerd met de *Verticillium*-isolaties resp. uit tomaat (2), Spaanse peper (9) en komkommer (18).

Cucumbers, 16 days after the inoculation. From left to right control and plants inoculated with the Verticillium*-isolates from tomato (2), pepper (9) and cucumber (18).*

van een strenge specialisatie gesproken kan worden. De pathogeniteit van de isolaties kan verschillend zijn. Ten opzichte van het gewas van herkomst is de pathogeniteit over het algemeen het grootst.

SUMMARY

In the last few years it has become apparent that isolates of *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH., while not specific to their host plants of origin, may besides having a fair range of pathogenicity, at the same time be most pathogenic upon the host species from which they were isolated. The literature on this subject has been summarised bij VAN DEN ENDE (1958). To explore the matter further, some isolates of *V. albo-atrum* have been tested on a number of crops grown under glass.

To obtain the different isolates, diseased plants were collected, cut into pieces and sterilised in 70 % alcohol (10 sec.), then 1 % mercuric chloride (15 sec.) and again 70 % alcohol (10 sec.). After that, the pieces were flamed, cut lengthwise and placed in petri dishes on cherry-agar, at a temperature of 21 °C. In table 1 the different isolates are listed together with their host plants and places of origin, and also the type of isolate concerned. According VAN DEN ENDE (1958) there is no difference between *V. albo-atrum* REINKE & BERTH. and *V. dahliae* KLEBAHN; so we have to do with different forms of *V. albo-atrum*. In these experiments the isolates used were of the following types: microsclerotial type (M), dark hyphal type (D) and a hyaline type (H).

The plants upon which the isolates were tested are listed in table 2. The plants were inoculated when the first true leaves became visible. The inoculation was done by dipping the roots, after washing, in a spore suspension made by shaking with water four cultures of the fungus, about four to five weeks old. For inoculation experiments with chrysanthemum, rooted cuttings about 8 cm in length were used. After inoculation, the plants were potted in steam sterilised soil and placed in a glass-house. Twenty plants were used in each experiment. The experiments with chrysanthemum, endive and (head) lettuce were carried out in the autumn; with the other crops in spring and summer. To find a correlation between growth and development of the plants and the results of *Verticillium* inoculations, experiments with eggplants, tomato (variety A.C.), cucumber and melon were also carried out in autumn and winter.

The testplant showed the following symptoms:

a. inhibition of growth;
b. yellowing and dropping of the cotyledons, in most cases followed by some yellowing of the oldest leaves;
c. as for b, with yellowing, wilting and dying of the older and younger leaves in addition, sometimes followed by dying of the whole plant;
d. adventitious root formation;
e. internal stem browning.

The results of the experiments were as follows:

Eggplant. Isolates 3, 4, 8 and 17 (from tomato) and 10, 11, 12 and 13 (from eggplant) gave strong inhibition of growth and marked leaf symptoms, with internal browning of the basal parts of the stem. Some of these isolates caused dying of whole plants within about six weeks. The other isolates gave the

symptoms just mentioned, but in a lesser degree. All the isolates could be reisolated.

Melon. Only isolates 2 (from tomato), 9 (from pepper) and 18 (from cucumber) gave strong inhibition of growth, leaf symptoms and internal browning of the basal parts of the stem. The plants died within about five weeks. Isolates 5, 15 and 16 (from chrysanthemum) and 17 (from tomato) gave a few symptoms. The isolates 1 (from witloof cichory), 3, 4 and 8 (from tomato), 7 (from strawberry) and 10 and 11 (from eggplant) produced no symptoms. All the isolates could be reisolated.

Sweet pepper. After inoculation with the isolates 2, 3 and 8 (from tomato) and 14, 15 and 16 (from chrysanthemum) few symptoms developed. Reisolations were positive for these isolates and also for isolates 4 (from tomato), 7 (from strawberry) and 18 (from cucumber).

Pepper. Strong inhibition of growth occurred after inoculation with isolates 2 (from tomato) and 9 (from pepper). Isolates 5 (from chrysanthemum), 6 (from strawberry), 10 (from eggplant) and 18 (from tomato) gave few symptoms. Reisolations could be made from plants inoculated with these isolates and with isolates 3, 4, 8 and 17 (from tomato), 7 (from strawberry), 11 and 13 (from eggplant) and 14 and 15 (from chrysanthemum).

Tomato, variety A.C. Inoculations with isolates 3, 4, 8 and 17 (from tomato) and 10, 11, 12 and 13 (from eggplant) resulted in strong inhibition of growth and marked leaf symptoms, together with considerable internal browning of the basal stem parts. Isolates 2 (from tomato), 7 (from strawberry) and 14 and 16 (from chrysanthemum) gave less pronounced symptoms. Reisolations were positive for all isolates, except for numbers 1, 6 and 15 (from witloof cichory, strawberry and chrysanthemum respectively).

Endive and lettuce. Only isolate 1 (from witloof cichory) gave a few external and internal symptoms. Reisolation was positive from endive, but not from lettuce.

Chrysanthemum. A little internal browning of the basal parts of the stem occurred with isolate 5 (from chrysanthemum), about 16 weeks after inoculation. Reisolation succeeded for isolates 2, 8 and 17 (from tomato) and 5, 14, 15 and 16 (from chrysanthemum).

Cucumber. About five to six weeks after inoculation, plants inoculated with isolate 2 (from tomato), 9 (from pepper) and 18 (from cucumber) died. Reisolation was possible also from the plants inoculated with isolates 1 (from witloof cichory), 2 and 8 (from tomato), 11 (from eggplant) and 16 (from chrysanthemum).

Tomato, variety V.R. (a *Verticillium*-resistant variety). Only with isolate 2 (from tomato) did a few symptoms develop six to seven weeks after inoculation. Reisolation was possible from plants inoculated with isolates 2, 8, 11, 15 and 17 (from tomato, tomato, eggplant, chrysanthemum and tomato respectively).

From the experiments (all summarised in table 3) it appears, that there is no strong specialisation of the different isolates. On the whole, isolates are most pathogenic upon their hosts of origin. This is clearly demonstrated for the isolates from tomato (2, 3, 4, 8 and 17) ,except for isolate 2. The results suggest that isolate 2 may have been an „accidental" inhabitant of the tomato. As it was most pathogenic to cucumber and melon it is possible that it came originally from one of these crops.

It will be noted that there was a great similarity in behaviour between the isolates from eggplant and tomato (except for isolate 2).

On the whole, attempts at reisolation from the *Verticillium*-resistent tomato had little success. From some plants, isolates 2, 8 and 17 (from tomato), 11 (from eggplant) and 15 (from chrysanthemum) could be reisolated. From some experiments it appeared likely that reisolation of more isolates might be possible, especially those from tomato, if a longer period were allowed to elapse after inoculation.

Inoculation experiments with cucumber, melon, eggplant and tomato, variety A.C., gave the same results in principle, whether carried out in spring and summer or in autumn. In autumn and winter, however, symptom expression was much stronger and the symptoms became visible sooner. Also, on plants growing under poor conditions, *Verticillium* infection became evident sooner and more clearly than on those growing under good conditions. At several places in the glasshouse district of western Holland this has been clearly demonstrated when tomatoes grown in soil with a poor soil structure, and consequently with a poorly developed root system, showed the results of *Verticillium* infection exceptionally severely.

De schrijver betuigt gaarne dank aan Mevrouw Ir. M. POST-BAKKER voor welwillende kritiek en aan Mr. G. G. SAMUEL voor het corrigeren van de Engelse samenvatting.

LITERATUUR

BEWLEY, W. F., – 1922. „Sleepy disease" of the tomato. Ann. appl. Biol. 9: 116–134.
CHRISTIE, J., – 1956. Pathogenicity tests with species of Verticillium. New-Zealand J. Sci. Techn. Sect. A 38.1: 17–19.
EDGINGTON, L. V. & J. C. WALKER, – 1957. The influence of soil and air temperature on Verticillium wilt of tomato. Phytopath. 47: 8.
ENDE, G. VAN DEN, – 1958. Untersuchungen über den Pflanzenparasiten Verticillium alboatrum REINKE et BERTH. Acta bot. Neerl. 7: 665–740.
GREEN, R. J., – 1951. Studies on the hostrange of Verticillium, that causes wilt of Mentha piperita L. Science 113: 207–208.
HORNER, C. E., – 1954. Pathogenicity of Verticillium isolates to peppermint. Phytopath. 44: 239–243.
ISAAC, I., – 1957. Verticillium wilt of Brussels sprouts. Ann. appl. Biol. 45: 276–283.
NATTI, J. J., – 1958. Verticillium wilt of broccoli and cauliflower in New York. Phytopath. 48: 264.
NELSON, R., – 1950. Verticillium wilt of peppermint. Mich. Agric. exp. Sta. techn. Bull. 221: 1–259.
RUDOLPH, B. A., – 1931. Verticillium hadromycosis. Hilgardia 5: 197–353.
THOMAS, C. A. & R. E. WEBB, – 1956. Peppermint wilt, indured by a Verticillium isolate from potato. Phytopath. 46: 238.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 138–141

HET UITWENDIG STERILISEREN VAN PLANTEN BIJ FYTOPATHOLOGISCH ONDERZOEK[1]

With a summary: External disinfection of plant parts

DOOR

G. J. SAALTINK

Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen

Wanneer een pathogene schimmel uit een waardplant moet worden geïsoleerd, wordt deze meestal eerst uitwendig met een desinfectans behandeld. Het doel van deze ontsmetting is op het oppervlak der planten zoveel mogelijk micro-organismen te doden, teneinde naast de pathogene schimmel zo weinig mogelijk andere schimmels te zien verschijnen op het voedingsmedium waarop aangetaste plantedelen worden uitgelegd. Als op deze wijze een schimmel is geïsoleerd, wordt daarna door middel van infectieproeven nagegaan of deze inderdaad pathogeen is.

In de tweede plaats wordt een uitwendige ontsmetting herhaaldelijk toegepast wanneer het er om gaat aan te tonen of een bepaalde pathogene schimmel al of niet in de plant aanwezig is (BROCH, 1948; BUXTON, 1955; HENDRIX & NIELSEN, 1958; SCHEFFER & WALKER, 1954).

In het eerste geval stelt men bij het isoleren slechts als voorwaarde dat de groei van een parasitaire schimmel weinig zal worden gehinderd door de aanwezigheid van andere organismen; de buitenzijde van het materiaal behoeft dan dus niet volkomen steriel te zijn. Anders is het in het tweede geval; hier dient een volledige uitwendige steriliteit te worden nagestreefd. In literatuur wordt gewoonlijk volstaan met de vermelding dat de planten werden gedesinfecteerd, zonder aan te geven of met de toegepaste methode werkelijk een steriel oppervlak werd verkregen.

In de bacteriologie is vrij veel onderzoek verricht over de werking van verschillende middelen, maar in de fytopathologische literatuur zijn hierover weinig gegevens te vinden.

Hieronder volgen een aantal proeven die genomen werden met het doel de werking na te gaan van diverse ontsmettingsmiddelen op sporen van *Fusarium oxysporum*, die vooraf op lupineplanten waren aangebracht. Deze proeven hielden verband met een kwantitatief onderzoek over de uitbreiding van deze schimmel *in* de plant, waarbij het noodzakelijk was alle zich buiten op de plant bevindende ziektekiemen (sporen en/of mycelium) zoveel mogelijk uit te schakelen.

Bij de eerste proeven werden gezonde lupineplanten in sporensuspensies gedompeld en, nadat de suspensie was opgedroogd, ontsmet met verschillende middelen. Daarna werden stukjes van de plant op een agar-voedingsbodem uitgelegd. Het bleek dat zelfs na ontsmetting bij kamertemperatuur gedurende 5 minuten in sublimaat 0,2 % of 10 minuten in ethanol 96 % nog *Fusarium* op enkele van de uitgelegde stukken groeide.

Ook andere ontsmettingsmiddelen werden beproefd, zoals natriumhypo-

[1] Aangenomen voor publikatie 15 mei 1959.

chloriet, zilvernitraat en jodium, doch ook hier was de ontsmetting niet volledig. Men zou dan hogere concentraties of een langere inwerkingsduur kunnen toepassen, maar daarbij moet dan rekening worden gehouden met een sterker binnendringen, hetgeen uiteraard bij kwantitatief werk ongewenst is, daar dan een deel van het *in* de plant aanwezige mycelium gedood kan worden.

Om het effect van de ontsmetting beter te kunnen bepalen werd tot een andere methode overgegaan. De planten werden op dezelfde wijze behandeld, maar na het ontsmetten werd een stuk van elke plant in een waring blendor in water gemalen. Daarna werd van de verkregen suspensie een hoeveelheid gemengd met peptonagar en uitgegoten in petrischalen. Het aantal kolonies dat dan opkomt vormt een maat voor de hoeveelheid nog levende *Fusarium*-sporen die zich op de plantjes bevonden.

De resultaten van een aantal proeven zijn samengevat in tabel 1. In de niet ontsmette objecten van deze proeven varieerde het aantal kolonies van 203 tot 2772. In de verschillende proeven werd iedere behandeling in 3-, 4- of 7-voud uitgevoerd.

TABEL 1. Uitwendige ontsmetting van planten met verschillende middelen.
External disinfection of plant parts by various compounds.

Ontsmettingsmiddelen *Disinfectants*	Duur van de behandeling *Period of treatments*	Percentage opgekomen kolonies *Numbers of colonies developed as percentage of control*							
Niet ontsmet / *Not disinfected*		100	100	100	100	100	100	100	100
0,2% sublimaat *corrosive sublimate*	2 min.	11,3		0,6	5,9				
0,2% sublimaat met *corrosive sublimate* 0,03% tween L80 *with tween L 80*	2 min.	13,2	1,3	2,0					
4% natriumhypochloriet *sodium hypochlorite*	2 min.	6,1		0,3	2,0				
96% ethanol	2 min.				12,8	2,6	12,0	8,0	20,0
96% ethanol	4 min.						2,0	2,5	5,2
96% ethanol	6 min.				5,4		0,5	0,3	3,0
96% ethanol	10 min.				1,5				
70% ethanol	2 min.	13,9	5,5	4,9		4,3			
50% ethanol	2 min.					5,5			

Uit deze gegevens blijkt dat het moeilijk, zo niet onmogelijk is de sporen voor 100 % te doden. Er is geen sprake van geweest, dat de plant sporen heeft opgenomen, want indien hiertegen voorzorgsmaatregelen werden getroffen, bijvoorbeeld door de wortels vooraf met paraffine te bedekken, waren de resultaten hetzelfde.

De invloed van desinfectantia werd ook bij enkele andere schimmels onderzocht. De sporen van *Mucor* sp., *Alternaria tenuis* en *Colletotrichum lindemuthianum* werden, nadat ze op lupineplantjes waren gebracht, niet voor 100 % gedood door toepassing van sublimaat 0,2 % gedurende 2 minuten bij kamertemperatuur.

Om het effect van de temperatuur op de ontsmetting te bestuderen werden planten, met *Fusarium*-sporen aan de buitenzijde, gedompeld in ethanol 96 %

van verschillende temperatuur. Het verschil in werking blijkt uit de gegevens die in tabel 2 zijn vermeld.

TABEL 2. Ontsmettende werking van ethanol 96% bij verschillende temperaturen.
Disinfection by ethanol 96% at different temperatures.

Behandelingen / *Treatments*	Percentage opgekomen kolonies *Number of colonies developed as percentage of control*
Niet ontsmet / *Not disinfected*	100
96% ethanol, 2 min., 15 °C	8,8
96% ethanol, 2 min., 20 °C	1,1
96% ethanol, 2 min., 25°C	0,3

Het te verwachten effect – betere werking bij een hogere temperatuur (McCULLOCH, 1946) – is hier duidelijk te constateren. De verschillen in werkzaamheid van de behandelingen uit tabel 1 moeten achteraf bezien waarschijnlijk voor een groot deel aan verschillen in temperatuur bij de ontsmetting worden toegeschreven. De ontsmetting werd nl. bij wisselende kamertemperatuur uitgevoerd.

Voor het bepalen van de werking van ontsmettingsmiddelen wordt in de bacteriologie vaak de methode van RIDEAL & WALKER (1905) gebruikt. Hierbij worden gesuspendeerde bacteriën gemengd met oplossingen van ontsmettingsmiddelen. Wanneer men dit doet met *Fusarium*-sporen, dan blijken deze bij 18 °C reeds na 10 seconden in ethanol 50 % gedood te worden. Blijkens de gegevens van de tabellen 1 en 2 zijn deze sporen op de plant veel minder gevoelig; hiervan blijven zelfs na een meer rigoureuze behandeling verscheidene in leven. Dit kan een gevolg zijn van het feit dat de sporen op de wortels zich in droge toestand bevinden en dus minder permeabel zijn. Ook zouden de sporen in groepjes bijeen kunnen liggen, zodat zij elkaar bedekken of zouden zij bv. in groefjes van het oppervlak met een luchtmantel omgeven kunnen zijn.

Om een algehele uitwendige ontsmetting te verkrijgen zou men dus de concentratie, de tijdsduur of de temperatuur dienen op te voeren. Maar speciaal bij kwantitatief werken doet zich dan de vraag voor of het ontsmettingsmiddel niet te sterk zal binnendringen en met de plantecellen niet ook het mycelium van de parasiet, die men wil bestuderen, zal worden gedood. Teneinde hierover nadere gegevens te verkrijgen werden met behulp van een injectienaald sporen van *Fusarium oxysporum* door het hypocotyl in de wortels van één maand oude lupineplanten gebracht (dikte wortels 2 tot 3 mm). Wanneer de wortels gedurende 4 minuten bij kamertemperatuur met ethanol 96 % waren behandeld, kon – vergeleken met onbehandeld – in geen enkel geval een afneming van het aantal opgekomen kolonies worden geconstateerd. Bij een behandeling van 6 minuten werd Fusarium in de wortels soms gedood, bij nog langer behandeling was de doding door binnendringen sterker.

SUMMARY

To demonstrate the presence of a fungus in plant tissue, parts of plants are often placed on agar plates. In this case it is necessary to be certain that the fungus does not occur on the outside of the plant.

In the present study it is demonstrated that some common methods of disinfection are not sufficient to kill all conidia of *Fusarium oxysporum* which are present on the outside of plants. We give the results of experiments with the following disinfectants: 0,2 % corrosive sublimate – 2 min., 50 % to 96 % ethanol – 2 tot 10 min., and 4 % sodium hypochlorite – 2 min. It is probable that these results also hold true for other fungi.

LITERATUUR

Broch, R. D., – 1948. The nature of Fusarium wilt resistance in the tomato variety Pan America. J. Austral. Inst. agr. Sci. 14: 78–80.

Buxton, E. W., – 1955. Fusarium diseases of peas. Trans. Brit. myc. Soc. 38: 309–316.

Mc Culloch, E. C., – 1946. Disinfection and sterilization. Philadelphia.

Hendrix, F. F. & L. W. Nielsen, – 1958. Invasion and infection of crops other than the forma suscept by Fusarium oxysporum f. batatas and other formae. Phytopath. 48: 224–228.

Rideal, S. & J. T. A. Walker, – 1903. Standardisation of disinfectants. J. roy. San. Inst. 24: 424–437.

Scheffer, R. P. & J. C. Walker, – 1954. Distribution and nature of Fusarium resistance in the tomato plant. Phytopath. 44: 94–101.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 142–146

OVER DE TERMEN PRIMAIR EN SECUNDAIR ZIEK IN DE FYTOPATHOLOGIE[1]

With a summary: On the use of the terms "primair" and "secundair ziek" in plant pathology

DOOR

A. J. P. OORT

Laboratorium voor Fytopathologie, Wageningen

Bij de bladrolziekte van de aardappel worden sinds het klassieke onderzoek van QUANJER (1916a) twee typen zieke planten onderscheiden die worden aangeduid met primair resp. secundair ziek. Aanvankelijk gezonde planten, die in de loop van het seizoen worden geïnfecteerd door het bladrolvirus, worden primair ziek genoemd. Heeft de infectie tijdig genoeg plaats gehad dan komt het virus in de jonge knollen terecht, die het volgend jaar planten opleveren, die van de knol uit, dus van het allereerste begin af, geïnfecteerd zijn. Deze worden dan secundair ziek genoemd.

De beide typen zieke planten onderscheiden zich door de symptomen en door het tijdstip waarop deze zichtbaar worden.

QUANJER (1916a) beschrijft deze als volgt: „Wij zullen in de volgende hoofdstukken de laat zieke planten primair ziek noemen, omdat zij, aanvankelijk nog volkomen gezond, in den loop van het groeiseizoen aangetast zijn geworden. Voorts zullen wij de vroeg zieke planten secundair ziek noemen. Onverschillig of in de primair zieke de verschijnselen al of niet worden waargenomen, komt in hun nageslacht het beeld der secundaire ziekte ongeveer even sterk voor den dag." En even verder: „Wanneer wij de aardappelplanten, die primair worden aangetast, aanduiden als eerste generatie, dan heeft men bij verreweg het meerendeel of alle planten van de tweede generatie reeds de verschijnselen van secundaire ziekte in hevige mate."

In een tweede publikatie zegt QUANJER (1916b): „Die beschriebene heftige Form der Krankheit habe ich als sekundäre Form gedeutet; sie zeigt sich bei Pflanzen, von welchen die Mutterknolle schon krank war. Pflanzen, welche aus gesunden Knollen emporwachsen, können im Laufe des Sommers infiziert werden. Diese primär kranken Pflanzen bringen eine Nachkommenschaft hervor, welche die Krankheit direkt in der starken sekundären Form zeigt".

De termen primair en secundair ziek zijn in Nederland in de loop van de jaren door de praktijk overgenomen; thans wordt zelfs veelal ook van secundair ziek gesproken in die gevallen waarbij planten hun infectie (veroorzaakt door virussen, bacteriën of schimmels) ontlenen aan geïnfecteerd zaad, plant- of pootgoed. In deze wijdere betekenis vinden wij beide termen in het boekje „Ziekten en beschadigingen van Landbouwgewassen" van VERHOEVEN (1954). Men kan de vraag stellen of dit al of niet terecht geschiedt. Voordat ik deze vraag wil beantwoorden, allereerst nog enkele aanhalingen uit de literatuur.

Dat de door QUANJER ingevoerde termen toentertijd reeds aanleiding zijn geweest tot discussie blijkt wel uit het volgende (QUANJER, 1922): „In overleg met

[1] Aangenomen voor publikatie 20 mei 1959.

de aardappelcommissie wordt thans, bij wijze van proef, de ziekte of knolbesmetting, die reeds in de moederknol aanwezig is, „knolziekte" of „knolbesmetting" genoemd, terwijl de ziekte, die in den loop van het groeiseizoen door besmetting wordt opgedaan, „nieuwe ziekte" of „nieuwe infectie" heet. Wie echter met mij „secundaire" en „primaire" ziekte prefereert, gelieve mij daarvan kennis te geven".

In de buitenlandse virus-literatuur worden de termen primair en secundair wel gebruikt, maar lang niet algemeen. SMITH (1957) spreekt bij de bladrolziekte van „primary" en „secundary leaf-roll", maar gebruikt bij andere virusziekten, die op de nakomelingschap overgaan – bv. bij het Y-virus en het rolmozaïek van de boon – de termen „early" en „current season symptoms". KÖHLER & KLINKOWSKI (1954) spreken bij de bladrolziekte van de aardappel en het rolmozaïek van de boon van primair en secundair, maar bv. bij het Y- en A-virus worden deze termen niet genoemd.

In de buitenlandse literatuur over ziekten, veroorzaakt door bacteriën of schimmels die met zaad, plant- of pootgoed overgaan, ben ik deze termen in bovengenoemde zin niet tegengekomen.

Wel worden primair en secundair dikwijls gebruikt, maar dan in verbinding met infectie en de betekenis is dan een andere. GAÜMANN (1951) zegt: „Das erste Glied der Infektkette, dessen Keim in unserem Klima meist aus dem Überwinterungsherd stammt, nennt man die Primärinfektion, die folgenden Glieder die Sekundärinfektionen". GAÜMANN noemt dan als voorbeeld de ascosporeninfectie bij het moederkoren als primaire en de daarop volgende honingdauwinfecties als secundaire. Men zou ook als voorbeeld kunnen noemen de ascosporeninfectie (primair) en de conidiëninfecties (secundair) van de appelschurft.

BUTLER & JONES (1949) gebruiken primaire infectie uitsluitend in de zin van de eerste infectie die in het seizoen optreedt en secundair voor de daaruit voortkomende infecties. Onder het hoofdstuk zaadontsmetting zeggen zij bv.: „Hot water seems also to be the most effective treatment against primary infection with *Phoma lingam* on swedes and turnips". Bij Fusarium-infecties van granen wordt vermeld: „There are two sources from which primary infections may attack the host: firstly, from the presence of the fungus already within or on the grain; and secondly, from the planting of clean seed in soil already contaminated with the organisms". Verder spreken zij bij de behandeling van de valse meeldauw van de ui van „primary" resp. „secundary stage" ter onderscheiding van de eerste infectie in het groeiseizoen, die uit de bol komt en de latere infecties.

Ook in de U.S.A. worden de beide termen in bovengenoemde zin gebruikt. In de glossary van „Plant Diseases, the Yearbook of Agriculture (1953)" vindt men voor „primary infection: the first infection by a pathogen after it has gone through a resting or dormant period". En voor „secondary infection: infection resulting from the spread of infectious material which has been produced following a primary infection or from other secondary infections without an intervening inactive period".

Men heeft dus tegenover elkaar primair en secundair ziek, zoals door QUANJER ingevoerd, en primaire en secundaire infectie, zoals gebruikt door de meeste buitenlandse fytopathologen voor de eerste resp. de daarop volgende infecties

in het seizoen. Het is duidelijk dat primair en secundair ziek in hun oorspronkelijke betekenis gebruikt zijn om *opeenvolgende stadia* aan te geven van een *continu doorlopende, systemische infectie*, die met het zaad of met poot- of plantgoed overgaat. Kennelijk heeft ook QUANJER het in deze zin bedoeld. Alle virusziekten, die hetzij met het zaad, hetzij met plant- of pootgoed overgaan vallen dus hieronder en ook een enkele schimmelziekte, zoals de valse meeldauw van de ui (veroorzaakt door *Peronospora destructor*). Wordt nl. een uieplant in de loop van het seizoen geïnfecteerd, dan ontwikkelt zich aanvankelijk een lokaal ziektebeeld; bij verdere ontwikkeling groeit de schimmel door de bladeren naar de bol en het volgende jaar ontstaat uit een dergelijke bol een plant die sterk in groei achterblijft en geheel door *Peronospora* is geïnfecteerd. Dit is dus geheel te vergelijken met vele virusziekten en het gebruik van primair resp. secundair ziek in QUANJER's betekenis van deze woorden zou hier dus zeer terecht zijn.

Laten wij nu een ziekte beschouwen, die wel met het zaad overgaat, maar waarbij de infectie niet continu is, zoals de vlekkenziekte van de erwt (veroorzaakt door *Ascochyta pisi*). De ziekte is gekenmerkt door gelokaliseerde vlekken. In de loop van het seizoen breidt deze zich uit door een zich herhalende infectie door middel van conidiën. Daarbij ontstaan eerst op de lagere, dan op de hogere bladeren en ten slotte op de peulen de typische *Ascochyta*-vlekken. Van de peul groeit de schimmel in het zaad. Men heeft hier dus te maken met een *discontinue infectieketen*, waarbij de parasiet pas na een aantal cycli in het zaad terecht komt. Het lijkt niet logisch om in dit geval bij de successievelijke infecties van blad op blad steeds van primair ziek te blijven spreken en alleen de planten die uit ziek zaad opgroeien secundair ziek te gaan noemen. Daar komt nog bij dat bij *Ascochyta pisi* en ook bij vele andere schimmels die met het zaad overgaan de infectie dikwijls voor een belangrijk percentage alleen in de zaadhuid aanwezig is en niet in de kiem. Tijdens de kieming heeft dan eerst de eigenlijke infectie van de kiemplant plaats. Men kan de daaruit zich ontwikkelende jonge planten toch moeilijk *secundair* ziek noemen. Verwijdert men tijdig de geïnfecteerde zaadhuid dan blijven de kiemplanten – voor zover geen diepere infectie aanwezig is – gezond (DEKKER, 1957). *Ascochyta* is dan geheel te vergelijken met die gevallen van overgang met het zaad waarbij zich sporen buiten op het zaad bevinden (steenbrand van tarwe) of waarbij zich een mycelium heeft ontwikkeld tussen de kafjes (stuifbrand van haver). Bij *Botrytis* van het vlas hebben wij met een dergelijk geval te doen. Ook hier bevindt de parasiet zich in de zaadhuid. Bij de kieming van het zaad blijft de zaadhuid in de grond achter. *Botrytis* groeit nu uit de zaadhuid door de grond naar het zich in de onmiddellijke nabijheid bevindende hypocotyl en infecteert dit (VAN DER SPEK, 1956). Eventueel in de grond aanwezige *Botrytis* zou op dezelfde wijze en op hetzelfde tijdstip kunnen infecteren, waarbij hetzelfde ziektebeeld zou ontstaan. Zou men nu na infectie uitgaande van de grond van primair ziek en na die, uitgaande van de zaadhuid van secundair ziek moeten spreken? Ook bij *Phytophthora infestans* komt een discontinue infectieketen voor.

Ik zou willen voorstellen om in de bovengenoemde gevallen en in alle andere gevallen met een discontinue infectieketen niet meer van primair resp. secundair ziek te spreken. Het gebruik van deze termen bij de aardappel ten opzichte van *Phytophthora* (OORT, 1954; VAN DER ZAAG, 1956) en bij verscheidene andere gevallen (VERHOEVEN, 1954) dient dus herroepen te worden.

Wil men in de toekomst verwarring vermijden dan zal men goed doen primair resp. secundair ziek en primaire resp. secundaire infectie dus als volgt toe te passen:

1. Primair en secundair ziek uitsluitend te gebruiken ter aanduiding van opeenvolgende stadia bij planten met een continue, systemische infectie. Primair ziek dus voor de in de loop van het seizoen geïnfecteerde plant, secundair ziek voor de – zonder nieuwe infectie – uit het door de primair zieke plant gevormde zaad of pootgoed opgroeiende zieke plant (vele gewassen met virusziekten, ui geïnfecteerd door *Peronospora*).

2. Deze termen in bovenstaande zin niet te gebruiken voor planten met discontinue, meestal min of meer gelokaliseerde infecties; dus niet voor aardappel geïnfecteerd door *Phytophthora* en verschillende andere gevallen. Wil men in deze gevallen de uit geïnfecteerd zaad opgroeiende zieke planten – steeds gekenmerkt door het vroeg optreden van de symptomen en soms door afwijkende symptomen – onderscheiden van de planten die in de loop van het seizoen ziek worden, dan moet men dit omschrijven door te spreken van: van de knol uit, resp. van het zaad uit geïnfecteerde plant of zieke plant uit geïnfecteerd of aangetast zaad. Ook voor virusziekten die met zaad of knol overgaan en voor *Peronospora* van de ui zou men deze omschrijving kunnen gebruiken, die – zonder associaties met het ziekteverloop – alleen de relatie van de zieke plant met het zaad resp. knol aangeeft. Primair en secundair ziek ook niet te gebruiken in omgekeerde zin, zoals gedaan door SCHENK (1959) bij *Gladiolus* aangetast door *Septoria*. Aangezien het hier ook een discontinue infectie betreft, zou men primair en secundair ziek moeten laten vervallen en een omschrijving moeten gebruiken.

3. Te vermijden zijn in de zin van primair resp. secundair ziek de combinaties: primaire en secundaire aantasting resp. besmetting, aangezien dit verwarring kan geven met primaire resp. secundaire infectie (zie 4).

4. Primaire en secundaire infectie te gebruiken in de zin van de eerste infectie die in het seizoen optreedt resp. de uit deze infectie voortkomende infecties.

SUMMARY

It is proposed to use the terms "primair" and "secundair ziek" which were introduced by QUANJER (1916) only to indicate the primary and the secundary stage, respectively, of a continuous systemic infection, which occurs with seedborne diseases (e.g. virus diseases of potato, common bean mosaic, *Peronospora destructor* of onions). The primary stage (e.g. primary leaf-roll) develops after an infection during the season, the secondary from the infected seed and other types of propagating structures.

For discontinuous disease cycles (e.g. *Ascochyta pisi*) the stage developing from the infected seed can better be described as: originating from the (infected) seed or in another way. The use of "secundair ziek" in this and other cases of interrupted disease cycles has to be avoided.

LITERATUUR

DEKKER, J., – 1957. Inwendige ontsmetting van door Ascochyta pisi aangetaste erwtezaden met de antibiotica rimocidine en pimaricine, benevens enkele aspecten van het parasitisme van deze schimmel. T. Pl.ziekten 63: 65–144.

GAÜMANN, E., – 1951. Pflanzliche Infektionslehre. 2e Aufl.
KÖHLER, E. & M. KLINKOWSKI, – 1954. Viruskrankheiten, in Sorauer, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. Band II, Lief. 1, 6e Auflage.
OORT, A. J. P., – 1954. Het eerste optreden van Phytophthora in het voorjaar. Landbouwvoorlichting 11: 116–120.
QUANJER, H. M., – 1916a. Aard, verspreidingswijze en bestrijding van phloeemnecrose (bladrol) en verwante ziekten. Meded. Rijks Hog. Land-, Tuin- en Bosb.school 10: 1–138.
QUANJER, H. M., – 1916b. Phloemnekrose und Mosaik und die züchterischen Masznahmen, wodurch man der Entartung, welche von diesen Kartoffelkrankheiten verursacht wird, in Holland vorbrengt. Jahresber. Ver. angew. Bot. 14: 128–145.
QUANJER, H. M., – 1922. Een proef over de beteekenis van ziekten en ziektenverspreiding bij de pootgoedverwisseling, genomen door het Instituut voor Phytopathologie in 1920 en 1921. Cultura, no. 404 (mei).
SCHENK, P. K., – 1959. Biologie en bestrijding van Septoria gladioli in gladiolen. T. Pl.ziekten 65: 63–64.
SMITH, K. M., – 1957. A textbook on plant virus diseases, 2nd Ed. London.
SPEK, J. VAN DER, – 1956. Kiemplantinfectie door Botrytis bij vlas. T. Pl.ziekten 62: 28–29.
VERHOEVEN, W. B. L., – 1954. Ziekten en beschadigingen van landbouwgewassen en hun bestrijding. 2e druk. Wageningen.
ZAAG, D. E. VAN DER, – 1956. Overwintering en epidemiologie van Phytophthora infestans, tevens enige nieuwe bestrijdingsmogelijkheden. T. Pl.ziekten 62: 89–156.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 147–157

ENKELE WAARNEMINGEN OVER HET OPTREDEN VAN DE VERWELKINGSZIEKTE BIJ LUZERNE IN ZEELAND IN 1957[1]

With a summary: Some observations on lucerne wilt disease in Zeeland in 1957

DOOR

J. KORT en H. A. VAN RHEENEN
Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen

INLEIDING

In 1957 en 1958 werd door de Plantenziektenkundige Dienst, op verzoek van de Rijkslandbouwconsulenten te Goes en Axel, een oriënterend onderzoek ingesteld naar de verwelkingsziekte in luzerne. Deze ziekte brengt in het zuiden van ons land veel schade toe aan dit gewas.

Als voornaamste veroorzaker van de verwelkingsziekte wordt algemeen *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH. genoemd. ISAAC (1957) constateerde, dat behalve *V. albo-atrum* ook *V. dahliae* KLEB. verwelkingsverschijnselen in luzerne teweeg kan brengen, hoewel deze schimmel door hem slechts éénmaal uit verwelkte planten van 29 percelen kon worden geïsoleerd.

Bij de determinatie van de in dit artikel genoemde schimmels, speciaal waar het gaat om het onderscheid tussen *Verticillium albo-atrum* en *V. dahliae*, werden de opvattingen van het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn gevolgd.

Behalve *V. albo-atrum* zijn nog enkele andere parasitaire organismen, zoals *Fusarium oxysporum f. medicaginis* WEIMER (WEIMER, 1928), *Corynebacterium insidiosum* (MCCULLOCH) JENSEN (JONES & MCCULLOCH, 1926) en de kortgeleden beschreven *Flavobacterium vasculorum* RIBALDI en *Aerobacter luteum* RIBALDI (RIBALDI, 1958), in staat een verwelking van luzerne te veroorzaken.

Door de verwarring in de determinatie binnen het geslacht *Verticillium* in het verleden èn door de vermelding van verschillende organismen als ziekteverwekkers, is de gedachte opgekomen dat ook andere *Verticillium*-soorten dan *V. albo-atrum*, en eventueel andere parasieten, in Zeeland een rol spelen.

Het onderzoek in deze provincie was in de volgende onderdelen gesplitst:

1. Het vaststellen van de mate, waarin de verwelkingsziekte in de voornaamste cultuurgebieden optreedt, alsmede een onderzoek naar de factoren die mogelijk hierop invloed uitoefenen.
2. Waarnemingen over het verloop van de ziekte gedurende het seizoen.
3. Bepaling van de identiteit van de ziekteverwekker(s).
4. Onderzoek naar onkruiden als waardplanten.
5. Invloed van het maaien op de uitbreiding van de ziekte.

Het onderzoek strekte zich uit over 1957 en 1958. De bovenstaande punten worden eerst behandeld, daarna de infectieproeven die werden uitgevoerd.

[1] Aangenomen voor publikatie 16 mei 1959.

1. *De mate van optreden van de ziekte en de invloed van verschillende factoren hierop.*

Teneinde informaties te verkrijgen over het optreden van de ziekte en over de factoren die mogelijk hierop invloed kunnen hebben werd door de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst in geheel Zeeland een enquête gehouden, waarbij 82 luzernepercelen waren betrokken. Er werden gegevens over de volgende onderwerpen verzameld: het bouwplan in de voorgaande jaren, de cultuurtoestand van de grond, het voorkomen van onkruiden en het aantastingspercentage van het gewas door verwelkingsziekte. De laatste waarneming werd bepaald door per perceel volgens een vast schema op vijf plaatsen het aantal gezonde en aangetaste stengels per 200 × 25 cm te tellen. Van elk aangetast perceel werd een monster ziek materiaal naar de Plantenziektenkundige Dienst te Wageningen gezonden voor het maken van isolaties. De opzet om de waarnemingen in het gewas kort vóór de tweede snede uit te voeren was gebaseerd op de ervaring, dat de verwelkingsziekte zich in dit ontwikkelingsstadium van het gewas goed openbaart. Dit nu is in 1957 niet uitgekomen. In de meeste percelen trad de ziekte niet of zeer sporadisch op. De bepaling van het aantastingspercentage is daarom op een later tijdstip op 55 luzernepercelen herhaald. Dit geschiedde deels vóór de derde, deels vóór de vierde snede van het gewas.

Het is niet mogelijk gebleken om uit de enquête veel gegevens te verzamelen die in rechtstreeks verband met het optreden van de verwelkingsziekte kunnen worden gebracht. Dit geldt voor de voorvrucht, het gebruik van stal- en/of groenbemesting, de stand van het gewas en de kwaliteiten van de grond. Slechts ten aanzien van het gehalte aan afslibbare delen van de onderzochte percelen bleek, dat de ziekte op de zwaardere gronden minder ernstig optrad dan op de lichtere. Van de 55 aangetaste luzernepercelen waren er 47 overjarig en slechts acht in het voorgaande jaar onder dekvrucht ingezaaid. Dit is in overeenstemming met de ervaring dat de ziekte in het jaar van inzaai zelden wordt waargenomen. Het aantal aangetaste percelen met een slechte, matige en goede stand bedroeg respectievelijk 16, 61 en 23 % van het totaal. Binnen de beide eerste categorieën kwamen percelen voor met zeer uiteenlopende aantastingspercentages. In de gewassen met een goede stand bleek minstens de helft geen ziekteverschijnselen te vertonen, terwijl de overige in een lichte graad waren aangetast. Het gemiddelde aantastingspercentage van elke categorie afzonderlijk correleerde wel met de beoordeling van de stand. Deze percentages bedroegen voor de categorieën „slechte stand", „matige stand" en „goede stand" resp. 10,1, 4,7 en 1,08. Voor elk afzonderlijk perceel was de aantastingsgraad van het gewas niet zonder meer uit de stand daarvan af te leiden.

2. *Waarnemingen over het verloop van de ziekte*

Teneinde inlichtingen te verkrijgen over het verloop van de ziekte werden in de Wilhelminapolder 10 en bij Kloosterzande in Zeeuwsch-Vlaanderen 12 permanente waarnemingsveldjes van 200 × 25 cm uitgezet (zie fig. 1). Op deze waarnemingsveldjes werd op 2 mei, 26 juni en 17 augustus 1957 het percentage aangetaste stengels bepaald. Tijdens elke beoordeling werd aangetast materiaal voor het maken van isolaties verzameld. Het bleek dat de aantasting op 26 juni (kort vóór de tweede snede van het gewas) minder ernstig was dan op 2 mei (ten

tijde van de eerste snede), overeenkomstig de bevindingen tijdens de enquête opgedaan. Op 17 augustus daarentegen had de ziekte zich sterk uitgebreid. De gemiddelde aantastingsgraad van de 22 veldjes bedroeg, uitgedrukt in procenten van het totaal aantal stengels, op de drie waarnemingsdata respectievelijk 20,7, 13,7 en 25,6.

Uit de waarnemingen van één jaar kan geen verklaring voor het ongelijke gedrag van de schimmel in verschillende jaren worden verkregen. Het is bekend dat *Verticillium* bij hoge temperaturen, b.v. 25 °C, minder pathogeen is dan bij lagere, zoals is beschreven bij de tomaat (Bewley, 1922). Een vergelijking tussen de weergegevens van juni 1956 en juni 1957 toont wel grote verschillen aan. Juni 1956 was nat en koud, terwijl in die maand in 1957 weinig neerslag viel en de temperatuur zeer hoog was.

3. *Bepaling van de identiteit van de ziekteverwekker(s)*

Het verzamelde zieke luzernemateriaal werd in het laboratorium van de Afdeling Diagnostiek bewerkt. De monsters bestonden uitsluitend uit duidelijk aangetaste planten met een volledige penwortel. Van de wortels werd een stuk van 1 tot 4 cm afgesneden. Dit werd in leidingwater gereinigd, in alcohol 96 % gedompeld en afgebrand. Het wortelstuk werd daarna gebruikt voor het maken van isolaties op kersagar. Per monster werden vier petrischalen bij een temperatuur van 24 °C weggezet en na ongeveer twee weken onderzocht. In tabel 1 zijn de resultaten hiervan weergegeven.

Tabel 1. Overzicht van de uit verwelkte luzerneplanten geïsoleerde schimmels en de frequentie van hun voorkomen.
The most frequently occurring fungi in wilted lucerne plants

Consulentschap *District*	Aantal monsters *Number of samples*	Percentage van het aantal monsters aangetast door *Percentage of samples attacked by*		
		V. albo-atrum	*Gliocladium*	*Fusarium*
Goes	38	50	2,5	69
Axel	49	35	10	84

Van de volgende isolaties werden reincultures gemaakt voor infectieproeven:

Verticillium albo-atrum, cultuur 217a
Gliocladium roseum, cultuur 273
Fusarium avenaceum, cultuur 295
Verticillium albo-atrum, cultuur 217b [1].

Het totale aantal isolaties uit ziek luzernemateriaal bedroeg 520, terwijl daarnaast nog ongeveer 1000 isolaties nodig waren om de verschillende schimmels in reincultuur te krijgen. De verschillende schimmels kwamen veelvuldig tezamen in één plant voor en het was dus niet mogelijk om conclusies ten aanzien van de pathogeniteit van de afzonderlijke schimmels te trekken. Door de hieronder beschreven infectieproeven werden later aanvullende gegevens verkregen. Het ontbreken van *Verticillium dahliae* was een aanwijzing dat deze schimmel waarschijnlijk geen grote rol bij de verwelkingsverschijnselen in luzerne speelt.

[1] Deze isolatie werd eerst na de infectieproeven als *V. albo-atrum* gedetermineerd. Door afwijkingen in de groei van het mycelium was deze aanvankelijk niet als zodanig herkend.

4. *Onderzoek naar onkruiden als waardplanten*

Om na te gaan of de veroorzaker(s) van de verwelkingsziekte van luzerne zich ook in onkruiden kan (kunnen) ontwikkelen, werd tussen 24 en 28 juni 1957 op de waarnemingsveldjes een groot aantal onkruiden verzameld. Uit de wortels werden cultures op kersagar gemaakt. Deze werden na ongeveer twee weken onderzocht. Het totale aantal onderzochte species bedroeg 50; hiervoor waren 370 isolaties nodig.

Het overgrote deel van de aangetoonde schimmels bleek tot soorten te behoren, die als zwakteparasiet of als veroorzaker van secundaire aantastingen bekend staan. Voor later uit te voeren infectieproeven op luzerne werden van de onderstaande isolaties reincultures gemaakt:

uit *Plantago major* L.	*Verticillium albo-atrum*, cultuur 59
uit *Capsella bursa-pastoris* Med.	*Verticillium albo-atrum*, cultuur 57
uit *Capsella bursa-pastoris* Med.	*Verticillium dahliae*, cultuur 8
uit *Thlaspi arvense* L.	*Verticillium dahliae*, cultuur 24
uit *Prunella vulgaris* L.	*Verticillium dahliae*, cultuur 247
uit *Plantago major* L.	*Verticillium lecanii*, cultuur 59

In de overige 45 onderzochte onkruiden kwam geen *Verticillium* voor.

5. *De invloed van het maaien op de uitbreiding van de ziekte*

In de Wilhelminapolder werd een waarnemingsveldje aangelegd, waarop niet-maaien, 1 × maaien, 2 × maaien en 3 × maaien met elkaar werd vergeleken. De maaidata waren 4 mei, 28 juni en 19 augustus 1957. Het veldje werd uitgezet in een vrij homogeen door verwelkingsziekte aangetast gedeelte van een praktijkperceel overjarige luzerne. Na de eerste snede van het gewas vertoonden de planten op het nietgemaaide blok iets meer verwelkingsziekte dan op de gemaaide blokken. Dit werd vermoedelijk veroorzaakt door het schaduwrijke, vochtige microklimaat onder het dichte, in elkaar gezakte gewas. Op de onderste, aangetaste blaadjes kon schimmelpluis worden waargenomen. Later zou blijken dat op deze blaadjes, wanneer zij vochtig werden gelegd, vooral op de nerven een massale vorming van conidiëndragers van *Verticillium albo-atrum* optrad (fig. 2).

Na de tweede snede was de aantasting op de gemaaide blokken ernstiger dan op het nietgemaaide blok, terwijl tussen 1 × en 2 × gemaaide blokken duidelijke verschillen te zien waren ten nadele van de meest gemaaide blokken. Bij voortzetting van het maaien nam de aantasting nog meer toe.

Uit het bovenomschreven verloop van de waarnemingen in de Wilhelminapolder blijkt, dat er een samenhang moet bestaan tussen de frequentie van maaien en de mate waarin de ziekte zich openbaart, m.a.w. dat de gevoeligheid van het gewas toeneemt, naarmate het vaker wordt beschadigd. Dit gold op het waarnemingsveld reeds ten aanzien van het maaien alleen, omdat dit met de hand gebeurde. Op de praktijkpercelen geschiedt dit machinaal, waarbij het gewas bovendien door het rijden wordt gekneusd. De aantasting is daarom het ernstigste op de wielsporen van maaimachines, trekkers en vrachtauto's, welke laatste het gemaaide produkt van het land halen. Deze wielsporen zijn dan ook later duidelijk terug te vinden als banen verwelkte planten. Luzerne is zeer gevoelig voor beschadiging van wortelhals en kroon.

De op het aangetaste en afgevallen blad tot ontwikkeling komende sporen-

FIG. 1. Eén van de 12 waarnemingsveldjes in luzerne waarop de aantastingsgraad werd bepaald op 2-5, 26-6 en 17-8-1957.

One out of 12 observation plots in lucerne on which the degree of infestation was estimated on 2-5, 26-6 and *17-8-1957.*

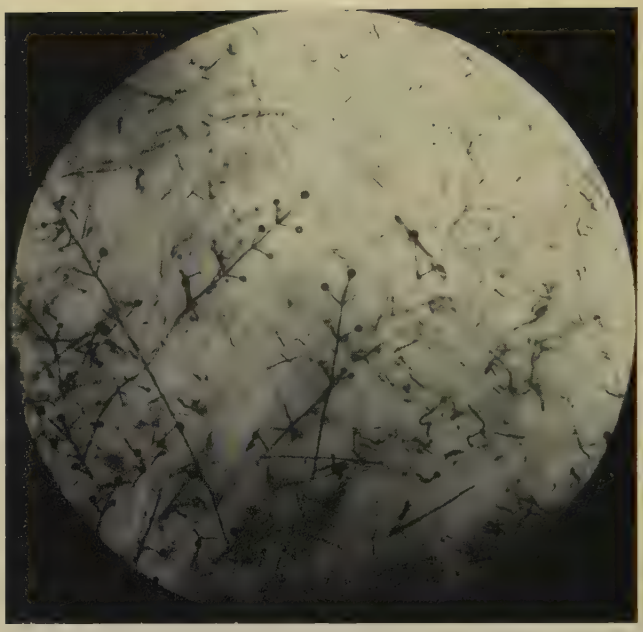


FIG. 2. Microfoto van de kransvormige conidiëndragers van *Verticillium albo-atrum*, gevormd op de nerven van vochtig gelegde, aangetaste luzerneblaadjes.

Micro-picture of whorled conidiophores of Verticillium albo-atrum, *grown on the veins of attacked lucerne leaves, under favourable conditions of moisture.*

FIG. 3. Overzicht van de wortelinoculatieproef, 49 dagen na de inoculatie. De objecten 1–11 zijn gerangschikt van rechts naar links.

General view of the root-inoculation experiment, 49 days after inoculation. Subjects 1–11 placed from right to left.

Voor obj. 5 / *for subj.* 5 (Acrost.) lees / *read* Gliocladium roseum
Voor obj. 6 / *for subj.* 6 (Cephal.) lees / *read* Verticillium lecanii
Voor obj. 8 / *for subj.* 8 (Ceplal.) lees / *read* Verticillium albo-atrum

massa's vormen een potentiële besmettingsbron temidden van een gemakkelijk te infecteren gewas. Reeds eerder werd opgemerkt, dat de ziekte eerst in het tweede jaar na de inzaai duidelijk zichtbaar wordt. De besmettingskans voor een eenjarig gewas is ogenschijnlijk even groot als voor een overjarig gewas, zij het dat het eenjarige gewas minder vaak wordt gemaaid.

Zodra de luzerne onder de dekvrucht vandaan komt, vertoont zij een sterke groei. Behalve dat het voor een schimmel steeds moeilijker is om een sterk groeiende plant binnen te dringen, verliest een dergelijke plant gedurende enige tijd na het afmaaien vocht via het snijvlak van de stengel. Dit laatste kan een beletsel zijn voor het binnendringen van de schimmelsporen.

Indien de schimmel de planten van de grond uit zou binnendringen, was te verwachten dat dit in het bijzonder in het jaar van inzaai zou gebeuren. Onder de dekvrucht groeit het gewas onder meer of minder kommervolle omstandigheden, die de gevoeligheid voor de parasiet slechts kunnen verhogen. Aangezien de feiten niet in overeenstemming met de verwachtingen zijn, lijkt ons verspreiding van de ziekte door middel van sporen uit de lucht aannemelijker dan besmetting van de grond uit.

INFECTIEPROEVEN OP LUZERNE

Reeds bij de bespreking van de identiteit van de ziekteverwekker(s) en de waardplanten onder de onkruiden werd een aantal schimmels genoemd, dat in reincultuur voor infectieproeven werd gereserveerd. Het doel van deze proeven was driedelig. In de eerste plaats werd gezocht naar een antwoord op de vraag, door welke schimmel(s) de verwelkingsziekte in luzerne kan worden veroorzaakt. Verder werd nagegaan of de schimmels uit de luzerne en de onkruiden dezelfde pathogeniteit bezitten. Ten slotte is het van belang te weten langs welke weg het pathogeen het gewas kan binnendringen.

De proeven werden als volgt uitgevoerd. Op 10 december 1957 werden drie zaaipannen met gezeefde, gestoomde bladaarde gevuld en met luzerne bezaaid. De kiemkracht van het gebruikte zaad bedroeg 83 %. De zaaipannen werden in een kas geplaatst bij een constante temperatuur van ongeveer 17 °C. Na de opkomst van de plantjes werd een extra belichting gegeven met H.P. Philips hoge druk kwiklampen, 125 W, type 57202 E/21. Deze belichting werd in de loop van de proeven aan de wisselende daglengten aangepast en op 29 april 1958 uitgeschakeld. Op 7 januari hadden de plantjes een lengte van 2 tot 2,5 cm bereikt. In dit stadium werden zij in bloempotten (Ø 14 cm) overgeplant, die alle gevuld waren met dezelfde aarde als waarin was gezaaid. In totaal werden 198 bloempotten ieder met één plantje beplant. Hierna werden de potten in een kastablet met vochtige turfmolm ingegraven bij dezelfde omstandigheden als beschreven voor de zaaipannen. Er werden drie groepen van 66 potten gevormd, iedere groep bestaande uit een zesvoudige herhaling van de onderstaande objecten:

1. onbehandeld
2. *Verticillium albo-atrum*, cultuur 57 uit *Capsella bursa-pastoris* MED.
3. *Verticillium albo-atrum*, cultuur 59 uit *Plantago major* L.
4. *Verticillium dahliae*, cultuur 8 uit *Capsella bursa-pastoris* MED.
5. *Gliocladium roseum*, cultuur 273 uit *Medicago media* L.
6. *Verticillium lecanii*, cultuur 59 uit *Plantago major* L.
7. *Verticillium dahliae*, cultuur 247 uit *Prunella vulgaris* L.

8. *Verticillium albo-atrum*, cultuur 217(b) uit *Medicago media* L.
9. *Verticillium albo-atrum*, cultuur 217(a) uit *Medicago media* L.
10. *Verticillium dahliae*, cultuur 24 uit *Thlaspi arvense* L.
11. *Fusarium avenaceum*, cultuur 295 uit *Medicago media* L.

Wortelinoculatie

Van deze 10 schimmels werden schudcultures gemaakt en op 20 januari 1958 werden deze in 10 grote petrischalen uitgegoten. Als controle werd een Czapek-oplossing gebruikt. Per object werden de zes plantjes rechtstandig uit de bloempotten getrokken, waardoor aan de fijne wortels schade werd toegebracht. De plantjes werden daarna gedurende 16 uur tot aan de wortelhals in de sporensuspensie gelaten en vervolgens weer in de potten teruggezet.

Met de wortelinoculatie werd beoogd na te gaan of het binnendringen van de schimmels via wortelbeschadigingen mogelijk is en zo ja, of dit binnendringen zou leiden tot een snel of een langzaam verlopend ziekteproces. In het veld kan een dergelijke wortelbeschadiging optreden door het scheuren van kleigrond onder invloed van uitdroging.

De planten, die met *Gliocladium roseum* waren geïnoculeerd, reageerden reeds na één dag met omkrullende, lichtgeel verkleurende blaadjes. De geelverkleuring ging later in witverkleuring over, waardoor het beeld iets aan verbranding of vergiftiging deed denken. Van de verkleurde blaadjes bleven de bladstelen fris groen. In tegenstelling tot de verwachting dat de planten snel te gronde zouden gaan, trad na een week herstel in. De verkleuring zette zich niet verder voort en er deden zich geen blijvende afwijkingen voor. Deze schimmel, die eerst na afloop van de proef werd gedetermineerd, staat bekend als een saprofyt. Zij bevat blijkbaar toch toxische stoffen die luzerne kunnen beschadigen.

De planten, geïnoculeerd met *Verticillium dahliae* uit *Prunella vulgaris*, *Thlaspi arvense* en *Capsella bursa-pastoris*, ontwikkelden zich alle krachtig en behielden een gezond uiterlijk tot het einde van de proef.

De met *Fusarium avenaceum* geïnoculeerde planten vertoonden vijf dagen na de inoculatie de volgende verschijnselen. De kiemblaadjes en het ongedeelde blad verkleurden en gingen slap hangen. De gedeelde blaadjes krulden op en tweede van de zes planten vielen geheel om. Van de gedeelde blaadjes verkleurde in het bijzonder het bladcentrum geel, terwijl de bladranden groen bleven. De nerven vertoonden een bruine verkleuring. Tien dagen na de inoculatie trad herstel in, zodat de resterende vier planten normaal doorgroeiden, al bleven zij in lengte bij de controleplanten achter.

De met *Verticillium albo-atrum* uit luzerne (object 9) geïnoculeerde planten reageerden eerst na 25 dagen met een plotselinge verwelking, zonder verkleuring van het blad. Hetzelfde geldt voor object 8. Dit beeld komt volledig overeen met het ziektesymptoom te velde. Negenendertig dagen na de inoculatie waren drie van de zes planten dood, terwijl de rest enige tijd daarna afstierf.

Verticillium albo-atrum uit *Plantago major* en uit *Capsella bursa-pastoris* hebben, evenals de isolatie uit luzerne zelf, een totale afsterving van de luzerneplantjes veroorzaakt. De planten geïnoculeerd met de isolatie uit *Plantago* reageerden met verwelking, voorafgegaan door geelkleuring van het blad; die geïnoculeerd met de isolatie uit *Capsella* alleen met verwelking.

De inoculatie met *Verticillium lecanii* heeft een snellere reactie van de planten tot gevolg gehad dan die met *V. albo-atrum*. Reeds na 18 dagen trad geelkleuring

en verwelking van het blad op. Alle met deze schimmel geïnoculeerde planten stierven af.

Fig. 3 geeft een overzicht van dit gedeelte van de proeven.

Stengelinoculatie

De tweede inoculatieproef werd op 9 april 1958 uitgevoerd met de luzerneplanten in de overige 132 bloempotten. Deze planten hadden inmiddels een lengte van ongeveer 30 cm bereikt. De helft der planten werd geïnoculeerd met behulp van een injectienaald no. 14. Per stengel werd enkele keren geïnjiceerd in de richting van de stengeltop (inoculatie door middel van injectie). Van de andere helft van de planten werden de stengels tot op 3 cm van de grond afgesneden, om het maaien te imiteren. Nadat de snijvlakken iets waren opgedroogd werden hierop druppeltjes van de sporensuspensies gebracht (inoculatie van het afgesneden gewas). De controleplanten werden met een Czapek-oplossing, geënt op havermoutagar, gehandeld.

Inoculatie door middel van injectie. Op 1 mei vertoonden 2 planten in object 3 (*V. a.-a.* uit *Plantago*) enige slaphangende blaadjes. Later waren alle planten duidelijk aangetast. Op 5 mei werden verschillende planten in de objecten 2 (*V.a-a.* uit *Capsella*), 6 (*V. lecanii* uit *Plantago*), 8 (*V.a-a.* uit *luzerne*) en 9 (*V.a-a.* uit *luzerne*) ziek, waarbij geelkleuring van het blad, beginnende rondom de nerven, in de meeste gevallen het inleidende ziektesymptoom van de later optredende verwelking vormde.

De eerste ziekteverschijnselen bij de met *Verticillium lecanii* geïnoculeerde planten bestonden eveneens uit een geelkleuring rondom de hoofdnerf van het blad.

De met *Fusarium avenaceum* geïnoculeerde planten bleven duidelijk lichter groen van kleur dan de controleplanten, doch andere symptomen deden zich niet voor.

Op 16 mei had een waardering plaats van de graad van verwelking in de 11 objecten. In tabel 2 wordt hiervan een overzicht gegeven.

TABEL 2. De graad van verwelking van de planten 37 dagen na de inoculatie.
The degree of wilting 37 days after the inoculation.

Objecten / *Subjects*	Herhalingen / *Replicates* a	b	c	d	e	f	Gemiddeld *Mean*
1. Onbehandeld / *check*	0	0	0	0	0	0	0
2. *V. albo-atrum* uit / *from Capsella*	3	5	4	4	3	5	4
3. *V. albo-atrum* uit / *from Plantago*	8	4	5	8	8	0	5,5
4. *V. dahliae* uit / *from Capsella*	0	0	0	0	0	0	0
5. *Gliocladium ros.* uit / *from lucerne*	0	0	0	0	0	0	0
6. *V. lecanii* uit / *from Plantago*	0	7	9	6	2	2	4,3
7. *V. dahliae* uit / *from Prunella*	0	0	0	0	0	0	0
8. *V. albo-atrum* uit / *from lucerne*	2	3	1	6	3	1	2,7
9. *V. albo-atrum* uit / *from lucerne*	10	6	7	8	8	9	8,1
10. *V. dahliae* uit / *from Thlaspi*	0	0	0	0	0	0	0
11. *Fus. avenaceum* uit / *from lucerne*	0	0	0	0	0	0	0

0 = geen verwelking / *no wilting*
10 = geheel verwelkt / *fully wilted*

Na de beoordeling op 16 mei werden uit alle aangetaste objecten zieke stengels geknipt voor het opnieuw maken van isolaties.

Inoculatie van het afgesneden gewas. Gedurende een maand na de inoculatie van de planten werden aan de hernieuwde groei, die zeer welig was, geen ziekteverschijnselen waargenomen. Eerst op 10 mei werd aan één plant in object 9 (*Vert. a-a.* uit *luzerne*) verwelking geconstateerd. De volgende dag werden ook in de objecten 2 (*V. a-a.* uit *Capsella*) en 3 (*V. a-a.* uit *Plantago*) bladverkleuringen opgemerkt. In object 11 (*Fusarium* uit *luzerne*) gaven alle planten een merkwaardige bronskleuring van het blad te zien. Op 16 mei traden in object 8 (*V. a-a.* uit *luzerne*) de eerste bladverkleuringen op. Het blad werd geel.

Stengels van de planten in de objecten 2, 3, 8 en 9, die aanvankelijk geheel gezond opgroeiden, werden op een later tijdstip toch aangetast.

Bij een eindbeoordeling op 5 juni waren alle planten van de objecten 2, 3, 8 en 9 door verwelkingsziekte aangetast. Bij object 6 was dit slechts bij 2 planten het geval. In object 11 vertoonden de geel verkleurde blaadjes een groot aantal necrotische stippen en vlekken. Deze aantasting resulteerde in een sterk omkrullen van het blad en later in bladval. Het nieuw gevormde blad daarentegen was gezond en alle planten bleven in leven.

SAMENVATTING EN CONCLUSIES

Het onderzoek naar het optreden van de verwelkingsziekte in luzerne in Zeeland heeft een oriënterend karakter gehad. De verzamelde gegevens, alsmede de voorlopige conclusies en suggesties, zijn voor uitvoeriger onderzoek wellicht van enig nut.

De verwelkingsziekte van luzerne komt in geheel Zeeland voor. In ongeveer 70 % van de in een door de Rijkslandbouwvoorlichtingsdienst uitgevoerde enquête betrokken percelen werd de ziekte geconstateerd. Het ware nuttig om de door de ziekte veroorzaakte schade door middel van opbrengstproeven vast te stellen.

Uit de enquêtegegevens kan geen rechtstreeks verband worden aangetoond tussen het optreden van de ziekte enerzijds en de voorvruchten, de toegepaste stal- en/of groenbemesting, de structuur, de zuurgraad en de kalktoestand van de grond anderzijds. Wel treedt de ziekte over het algemeen sterker op de wendakkers en in de wielsporen van landbouwmachines op. Dit kan op de wendakkers het gevolg zijn van structuurbederf en/of door beschadiging van het gewas door het heen en weer rijden van vrachtauto's die het gemaaide product van het perceel afvoeren. Aangezien op eenzelfde perceel de ziekte op een éénmalig veroorzaakt wielspoor buiten de wendakker in de volgende snede sterk naar voren komt is dit vermoedelijk meer het gevolg van een beschadiging van het gewas dan van structuurbederf. Er is een aanwijzing dat de ziekte gemiddeld in geringere mate optreedt op percelen met een hoog gehalte aan afslibbare delen dan op lichtere gronden. Ten aanzien van de stand van het gewas kon alleen bij een gemiddelde uit veel waarnemingen enige correlatie met de mate van aantasting worden aangetoond. Dit verband is voor de afzonderlijke percelen niet aanwezig. Overigens was het aantal waarnemingen aan de lage kant voor het trekken van conclusies voor dit soort factoren.

Het percentage zieke planten neemt toe naarmate een gewas vaker wordt gemaaid. Bovendien heeft de beschadiging van het gewas door landbouwmachines

dezelfde invloed. Er dient naar maatregelen te worden gezocht om deze beschadigingen zoveel mogelijk te voorkomen.

In de op *Verticillium albo-atrum* en *Fusarium avenaceum* onderzochte luzernemonsters bleken deze schimmels in respectievelijk 41 en 77 % van het aantal voor te komen. De voornaamste veroorzaker van de verwelkingsziekte van luzerne is zonder twijfel *Verticillium albo-atrum* REINKE et BERTH. Daarnaast kan *Verticillium lecanii* (ZIMM.) VIEGAS dezelfde symptomen veroorzaken.

De rol van *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC. is niet duidelijk. In ieder geval is deze schimmel niet in staat om luzerne te doen verwelken en afsterven, zoals *V. albo-atrum* dit doet. Hoewel de ziektesymptomen van beide schimmels duidelijk van elkaar zijn te onderscheiden, bestaat de mogelijkheid dat bij de beoordeling van de aantasting van een gewas luzerne deze verschillen over het hoofd worden gezien. Tussen het voorkomen van *Verticillium* en *Fusarium* kan geen verband worden gelegd.

Verticillium dahliae KLEB. werd nimmer uit zieke luzerne geïsoleerd. Wel werd zij in herderstasje (*Capsella bursa-pastoris* MED.), witte krodde (*Thlaspi arvense* L.) en brunel (*Prunella vulgaris* L.) gevonden. Geen van deze isolaties bleek echter in staat om bij luzerne ook maar een enkel ziektesymptoom te veroorzaken. Deze schimmel speelt dus bij de verwelkingsziekte van luzerne geen rol.

Verticillium albo-atrum kon worden geïsoleerd uit herderstasje (*Capsella bursa-pastoris* MED.) en grote weegbree (*Plantago major* L.). De beide isolaties gaven na inoculatie in luzerneplanten dezelfde ziektesymptomen als de isolatie van deze schimmel uit zieke luzerne. Er werd niet onderzocht of en op welke wijze de schimmel van de onkruiden op de luzerne kan overgaan.

De voornaamste verspreidingswijze van *Verticillium albo-atrum* in het veld is vermoedelijk die door middel van sporen door de lucht. Deze sporen worden bij vochtig weer in grote hoeveelheden op het aangetaste en later afgevallen blad gevormd en kunnen een gemaaid en/of stukgereden gewas gemakkelijk binnendringen. Het verdient aanbeveling de mogelijkheid tot uitschakeling van deze besmettingsbron door een bespuiting met een fungicide direct na het maaien te onderzoeken. Daarnaast is het van belang om een matig ziek gewas, dat de neiging vertoont ernstiger ziek te worden, vroegtijdig af te maaien om te voorkomen dat het aangetaste blad afvalt en een bron van besmetting vormt.

Hoewel een nieuw ingezaaid gewas door kunstmatige wortelinoculatie met *Verticillium albo-atrum* zeer gemakkelijk kan worden geïnfecteerd, blijkt dit in de praktijk zelden te gebeuren. Een aantasting van het gewas door de schimmel van de grond uit schijnt dus niet plaats te vinden. Hoewel de mogelijkheid tot infectie van het gewas in het eerste jaar ogenschijnlijk niet kleiner is dan van een overjarig gewas, wordt het eerste zelden door verwelkingsziekte aangetast. Het is de moeite waard om na te gaan of hier sprake is van een verband tussen het verschil in groeikracht tussen de beide ontwikkelingsstadia van het gewas en de mogelijkheid voor de schimmel om de plant binnen te dringen. Hierbij kan worden gedacht aan een verschil in uittreden van de sapstroom bij versgemaaide stengels.

In de kas uitgevoerde inoculatieproeven met een aantal schimmelisolaties toonden aan, dat met een inoculatie van de wortel, de bebladerde stengel en de afgesneden stengel van luzerne, de voor elke schimmel karakteristieke ziektesymptomen kunnen worden opgewekt. Uit de zieke planten konden in alle gevallen de geïnoculeerde schimmels (vaak in reincultuur) weer worden geïsoleerd.

SUMMARY

Some observations have been made on lucerne wilt disease during the growing season in 1957, and in experimental inoculation tests in a glasshouse in 1958. In the province of Zeeland the disease does harm to the crop and prevents many farmers from keeping their crops longer than two years.

In a survey data have been collected on soil type, preceding crops, green manuring and manuring with stable dung, pH, structure and weeds. No correlations between these factors and the degree of attack by the disease could be proved, except that on heavy soils the disease was less severe than on lighter soils (as a mean of all observations).

Development of the disease is facilitated by damage caused by mechanical equipment to the crop. Damage to the crown of the plants should be avoided as much as possible. The disease is distributed extensively after frequent mowing. On attacked leaves left behind on the mowed stalks, and on decayed leaves dropped to the soil, masses of spores of *Verticillium albo-atrum* are produced, which form a potential source of infection in a weakened crop.

It seems that the disease is more air-borne than soil-borne, since one year old crops are seldom attacked.

From attacked lucerne plants in the field the following fungi have been isolated: *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH., *Gliocladium roseum* BAIN and *Fusarium avenaceum* (FR.) SACC. (table 1).

Isolations have been made from 50 different species of weeds, out of which the following fungi were obtained: *Verticillium albo-atrum* REINKE & BERTH. from *Capsella bursa-pastoris* MED. and *Plantago major* L., *V. dahliae* KLEB. from *Prunella vulgaris* L., *Capsella bursa-pastoris* MED. and *Thlaspi arvense* L., and *V. lecanii* (ZIMM.) VIEGAS from *Plantago major* L.

In inoculation experiments with all these isolates, in roots, stalks and on cut plants of lucerne, only *V. albo-atrum*, both from lucerne and weeds, and *V. lecanii* proved to be able to cause wilting of leaves and stalks. With *Gliocladium*, *Fusarium* and *Verticillium dahliae* no such symptoms could be obtained. The results were the same whatever method of inoculation was used.

De schrijvers zijn de Rijkslandbouwconsulenten te Goes en Axel, de Heren Dr. Ir. C. W. C. VAN BEEKOM en Ir. J. A. H. HAENEN, alsmede hun medewerkers zeer erkentelijk voor de prettige wijze waarop met hen werd samengewerkt. Tevens zijn zij dank verschuldigd aan de Heren Ir. W. P. DE LEEUW en Drs. G. H. BOEREMA, van de Afdeling Diagnostiek van de Plantenziektenkundige Dienst, voor hun waardevolle aanwijzingen bij het omvangrijke mycologische laboratorium-onderzoek. De determinatie van de schimmels werd door het Centraal Bureau voor Schimmelcultures te Baarn geverifieerd, waarvoor de schrijvers hun dank betuigen.

Tenslotte brengen zij dank aan de Heer E. B. BROWN, N.A.A.S., Trumpington, voor de correctie van de Engelse samenvatting.

JONES, F. R. & L. MCCULLOCH, – 1926. A bacterial wilt and root rot of alfalfa caused by Aplanobacter insidiosum L. McC. J. agr. Res. 33: 493–521.
RIBALDI, M., – 1958. Ricerche sul diradamento dei medicai italiani. Phytopath. Z. 31: 337–366.
WEIMAR, J. L., – 1928. A wilt disease of alfalfa caused by Fusarium oxysporum, var. medicaginis. J. agr. Res. 37: 419–433.

T. Pl.ziekten 65 (1959): 158–160

KORTE MEDEDELING

CUCUMIS VIRUS 2 IN NEDERLAND[1]

With a summary:

Cucumis virus 2 *in The Netherlands*

DOOR

S. N. LIEM

Laboratorium voor Virologie, Wageningen

In mei 1956 werden door vriendelijke bemiddeling van de heer Ir. Y. VAN KOOT van het Proefstation voor de Groente- en Fruitteelt onder Glas te Naaldwijk, enkele komkommerplanten verkregen, waarvan de bladeren een duidelijk groen mozaïek vertoonden. Op de vruchten, die opvallend krom waren, kwamen kleine lichtgele vlekjes voor. Deze symptomen komen overeen, met die welke in de literatuur worden toegeschreven aan *Cucumis virus* 2 SMITH, dat door AINSWORTH (1935) Cucumber virus 3 wordt genoemd.

Bij inoculatie van komkommerplanten van de variëteit Lange Groene met sap van zieke planten traden de volgende ziekteverschijnselen op. Op het geïnoculeerde blad verschenen onduidelijke, lichte vlekjes. Het jonge, zich ontplooiende blad vertoonde eerst ronde, lichtgele vlekjes en was enigszins gebobbeld. Naarmate het jonge blad groter werd, breidden de vlekjes zich uit tot een duidelijk mozaïekpatroon van donkergroene en lichtgele vlekken was ontstaan. Op de volgende, jongere bladeren werd dit mozaïek steeds duidelijker. In de zomer duurde het ongeveer twee tot drie weken voor er symptomen op het blad verschenen. 's Winters was de incubatietijd ongeveer een maand.

Het *Cucumis virus* 2 vertoont in een aantal opzichten overeenkomst met het tabaksmozaïekvirus, zoals ook uit het onderzoek van KNIGHT (1955) bekend is. Zo bleek de verdunningsgrens van sap van zieke planten bij 10^{-7} of 10^{-8} te liggen, terwijl inactivering van het virus optrad na verhitting gedurende 10 minuten tot 98–99° C.

De waardplantenreeks van het virus is beperkt tot de *Cucurbitaceae:* het kon worden overgebracht op *Cucumis sativa*, *Cucurbita melo* en *C. vulgaris*, doch niet op *Nicotiana tabacum*, *N. glutinosa* en *Physalis floridana*.

Voor de praktijk is het van betekenis, dat het virus met zaad overgaat. Het gaat hier volgens CROWLEY (1957) om virus dat in opgedroogde vruchtresten op de zaden achterblijft en dat aanleiding geeft tot een besmetting van 10 tot 20 % der zaailingen. In hoeverre deze infectiebron door middel van uitwendige ontsmetting kan worden verwijderd, is bij het Proefstation te Naaldwijk in onderzoek.

Er werd getracht het virus te zuiveren ten einde er elektronenmicroscopische opnamen van te kunnen maken. Hiertoe werd uitgegaan van perssap, afkomstig van geïnoculeerde komkommerplanten van de variëteit Lange Groene. De zuivering werd uitgevoerd op een wijze, die in hoofdzaak overeenkomt met de door BAWDEN & PIRIE (1937) beschrevene. Het perssap werd van de groene bestanddelen ontdaan door het gedurende 10 minuten tot 65° C te verhitten en

[1] Aangenomen voor publikatie 24 april 1959.

Fig. 1.

Fig. 2.

FIG. 1 en 2. Elektronenmicroscopische opnamen van *Cucumis virus* 2. Vergr. 195.000 ×. Foto Stichting Landbouw Fysisch-Technische Dienst, Wageningen.

Electron micrographs of Cucumis virus *2. Magn.* × *195,000.*

vervolgens gedurende 30 minuten bij 5000 toeren per minuut te centrifugeren. Wanneer de p_H van de aldus verkregen vloeistof door toevoeging van HCl (ongeveer 2,8 N) op 4,8 werd gebracht, vlokte het virus uit. Door gedurende 30 minuten bij 10.000 toeren per minuut te centrifugeren, werd een neerslag verkregen, dat vervolgens in een weinig water werd opgenomen. Het nog in het perssap resterende virus werd met behulp van $(NH_4)_2SO_4$ (25 g per 100 ml perssap) neergeslagen. Ook dit neerslag werd gedurende 30 minuten bij 10.000 toeren per minuut afgecentrifugeerd en gevoegd bij het vorige. De zo verkregen virussuspensie werd gedurende 48 uur gedialyseerd tegen leidingwater, waarna nogmaals werd afgecentrifugeerd bij 4000 toeren per minuut gedurende 20 minuten om de laatste verontreinigingen te verwijderen.

Het verkregen viruspreparaat bleek zeer geconcentreerd en zeer infectieus te zijn. Het vertoonde onder het microscoop bij een vergroting van ongeveer 100-maal naaldvormige parakristallen. Bij verdunnen van het preparaat met gedestilleerd water losten deze parakristallen op. Elektronenmicroscopisch onderzoek wees uit, dat zij uiteen waren gevallen in staafvormige deeltjes (fig. 1 en 2). Uit een groot aantal metingen, waarbij de deeltjeslengte in klassen van 25 mμ werd ingedeeld, kwam vast te staan, dat het merendeel der deeltjes een lengte heeft, die in de klasse van 325 mμ valt (fig. 3). Er is dus, ook wat afmetingen betreft, een opvallende overeenkomst van het *Cucumis virus 2* met tabaksmozaïekvirus.

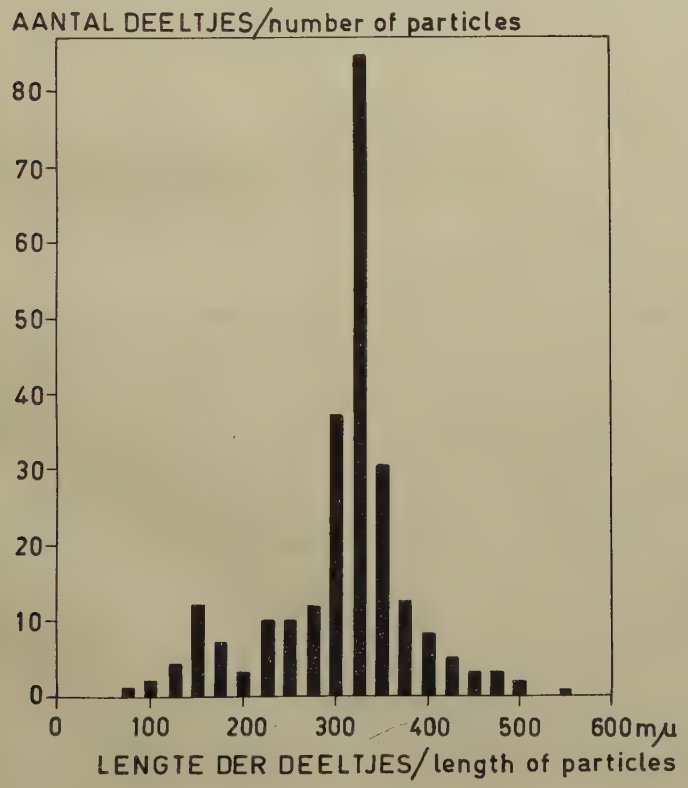


FIG. 3.
Frequentiecurve van *Cucumis virus* 2.
Frequency curve of Cucumis virus *2.*

Langs deze weg wordt hartelijke dank betuigd aan de heer Dr. J. G. TEN HOUTEN, Directeur van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen, voor de gelegenheid om het onderzoek aan het genoemde Instituut te verrichten. Mej. Dra. C. VAN DER SCHEER van de Landbouw Fysisch-Technische Dienst te Wageningen wordt dank gezegd voor het vervaardigen van de elektronenmicroscopische opnamen.

SUMMARY

Some properties of *Cucumis virus 2*, occurring in The Netherlands were studied. From electron micrographs can be concluded that the virus particles are rod-shaped, with a length of about 325 mμ (fig. 1, 2 and 3).

The thermal inactivation point, the dilution-endpoint and the length of the rods of this virus agree with those of *Cucumis virus 2* as described in literature. There is a close resemblance of this virus with tobacco mosaic virus.

LITERATUUR

AINSWORTH, G. C., – 1935. Mosaic diseases of the cucumber. Ann. appl. Biol. 22: 55–67.

BAWDEN, F. C. & N. W. PIRIE, – 1937. The relationships between liquid cristalline preparations of cucumber 3 and 4 and strains of tobacco mosaic virus. Brit. J. exp. Path. 18: 275–291.

CROWLEY, N. C., – 1957. Studies on the seed transmission of plant virus diseases. Austr. J. biol. Sc. 10: 449–464.

KNIGHT, C. A., – 1955. Are cucumber viruses 3 and 4 strains of tobacco mosaic virus? Virology 1: 261–267.

Jaarvergadering

Op 16 april vond te Utrecht de jaarvergadering plaats. Het huishoudelijk gedeelte werd bijgewoond door 20 leden.

Na de vergadering te hebben geopend, herdacht de voorzitter de leden, die de Vereniging in 1958 ontvielen, Ir. H. A. ORMEL en Prof. J. H. SCHUURMANS STEKHOVEN JR.

Uit het jaarverslag van de secretaris van het bestuur bleek o.a., dat het aantal leden en abonnees ongeveer gelijk is gebleven, nl. 920 (932).

Dit aantal was als volgt te verdelen (tussen haakjes de cijfers over 1957): binnenland 459 (492) leden, 71 (47) leden donateurs en 168 (168) abonnees; buitenland: 62 (66) leden en 160 (159) abonnees.

Het jaarverslag van de penningmeester toonde aan, dat dit jaar de balans vrijwel in evenwicht was. Het jaar sloot namelijk met een voordelig saldo van f 68,—. De kosten van het Tijdschrift over Plantenziekten bedroegen ruim twee duizend gulden meer dan was begroot. Daar stonden echter enkele niet onbetekenende meevallertjes bij de posten „losse nummers" en „overdrukken" tegenover.

De secretaris van de redactie bracht in herinnering, dat de 64e jaargang 484 bladzijden beslaat, waaronder twee dissertaties (201 blz.) en het „Van Slogteren"-nummer (144 blz.). De jaargang omvat 47 hoofdartikelen, die betrekking hebben op de volgende onderwerpen: algemeen 13, mycologie 12, virologie 9, entomologie 6, nematologie 2, fysiologische ziekten 3, terwijl de inhoud van 2 artikelen virologisch èn entomologisch is.

Het aanbod van te publiceren artikelen is momenteel redelijk maar niet groot. Voor de rubrieken „korte mededelingen" en „actualiteiten" bestaat vrijwel geen belangstelling.

De voorzitster van de Buitengewone Normcommissie 14 deelde mee, dat de definitieve normbladen met lijsten van Nederlandse namen van Plantenziekten bij Fruitgewassen en bij Groentegewassen nagenoeg persklaar liggen. Het contact tussen het bestuur en de Hoofdcommissie van de Normalisatie heeft er toe geleid, dat de normbladen tegen een zeer billijke prijs aan de leden ter beschikking kunnen worden gesteld. Besloten werd alle leden de bovengenoemde normbladen toe te sturen.

Uit het verslag van de secretaris van de betrokken commissie bleek, dat ook de lijst van „aanbevolen namen en afkortingen van bestrijdingsmiddelen" zover gereed is, dat deze persklaar kan worden gemaakt.

Aangezien ook de secretaris van de commissie „Terminologie" een soortgelijk geluid liet horen, mag worden verwacht, dat in de loop van dit jaar en het volgende jaar verscheidene normbladen gereed zullen komen.

Mejuffrouw Dra. F. QUAK trad uit het bestuur. Uit het dankwoord van de voorzitter kwam duidelijk naar voren de bijzondere grote waardering voor het vele werk dat zij voor de Vereniging heeft verricht, alsmede de prettige wijze waarop zij met haar mede-bestuursleden heeft samengewerkt. Tot haar opvolgster werd gekozen Mevrouw Ir. M. POST-BAKKER.

De heer P. SMEDING stelde zich niet herkiesbaar. De voorzitter bedankte hem hartelijk voor de prettige en gewaardeerde wijze, waarop hij de „praktijk" heeft vertegenwoordigd. Zijn opvolger is de heer H. P. DIJKSTERHUIS.

Op voorstel van het bestuur werd het aantal leden van het bestuur met één uitgebreid en wel met een lid, dat goed thuis is in de sector van de bestrijdingsmiddelenindustrie. Gekozen werd alszodanig de heer Ir. J. WALRAVE.

Mejuffrouw QUAK verliet ook de redactie. De secretaris van de redactie bedankte haar voor het feit, dat zij haar taak als lid van de redactie zo hoog heeft opgevat. In het vervolg zal Mevrouw POST-BAKKER het contact met de redactie van de zijde van het bestuur verzorgen.

Tijdens het wetenschappelijk gedeelte, dat door ruim 70 leden werd bijgewoond, sprak Dr. K. HARTSUYKER over „Tien jaar Bestrijdingsmiddelenwet".

De Wet op de Bestrijdingsmiddelen 1947 is op 4 oktober 1948 in werking getreden. Er is dus een overzicht te geven over de organisatie, de ontwikkeling en de omvang van het werk. Er zijn 1540 goedkeuringen verleend, ruim 10.000 monsters onderzocht en ruim 25.000 controle-bezoeken afgelegd bij fabrikanten, handelaren en loonspuiters.

Over het effect van de maatregelen kunnen we tevreden zijn. Vergeleken met tien jaar terug is de situatie enorm verbeterd, mede ook dank zij de samenwerking met andere Diensten als Arbeidsinspectie en Keuringsdiensten van Waren, die resp. het Landbouwveiligheidsbesluit en de Warenwet op dit terrein toepassen. Van de vrij grote aantallen controle-monsters, die de laatste jaren genomen zijn, bleek ongeveer 95 % goed of vrijwel goed te zijn. Het aantal middelen, dat thans nog illegaal wordt verhandeld, is zeer gering, ook wat betreft de omvang van de omzet.

In de loop van de tien jaar is 17 maal een proces-verbaal ingeleverd bij de Justitie. Alle andere moeilijkheden konden op andere wijze worden opgelost.

De voor de keuring en controle noodzakelijke financiën belopen naar schatting ongeveer 4 % van de totale jaarlijkse omzet aan bestrijdingsmiddelen.

Mej. M. C. KERSSEN gaf vervolgens een overzicht van „De Landbouwluchtvaart in Nederland".

In 1958 waren 6 luchtvaartbedrijven in de landbouw werkzaam, die tezamen 9 vastvleugelige toestellen (type Piper Super Cub PA-18A) en 3 helikopters exploiteerden. Uit economische overwegingen wordt maximaal 45 l vloeistof per ha toegediend. Ten einde een zo regelmatig mogelijke verdeling van de vloeistof over het gewas te verkrijgen worden spuitproeven gedaan ter bepaling van o.a. de juiste plaats van de spuitbomen en de spuitdoppen, de werkbreedte en de vereiste vlieghoogte.

Bij de proeven ter bestrijding van de aardappelziekte zijn kwantitatieve bepalingen verricht van de residu's op bladmonsters, waardoor kon worden vastgesteld dat het indringen van de spuitnevel van landmachine en vliegtuig in het gewas gelijk is. Afdrukken van de residu's op de bladeren geven een beeld van de verdeling van het bestrijdingsmiddel over het blad.

De bestrijding van de aardappelziekte en van verschillende schadelijke insekten in landbouwgewassen kunnen met succes met vliegtuigen worden uitgevoerd.

Onkruidbestrijding met DNC geeft nog onvoldoende resultaten.

Tot slot hield Dr. A. F. H. BESEMER een voordracht getiteld: „Voorlopige karakteristiek van onlangs verschenen bestrijdingsmiddelen". Hierin kwam op duidelijke wijze naar voren voor welke doeleinden de nieuwe middelen geschikt

kunnen worden geacht en in welk opzicht zij als een aanwinst mogen worden beschouwd.

Excursie

Voor de excursie op 16 juni naar de N.O.P. en Oost-Flevoland gaven zich ruim 60 personen op. Bezocht werden de volgende objecten: nematologische problemen in de tuinbouw nabij Ens, het virustoetsobject voor fruitgewassen van de P.D. te Emmeloord en in Oost-Flevoland proefvelden, waar worden onderzocht: voetziektenproblemen bij granen en de onkruidbestrijding door middel van riet.

Het was een in alle opzichten geslaagde excursie.

Ir. J. A. J. VEENENBOS
Secretaris

K. SCHIPSTRA, De toepassing van chemische bestrijdingsmiddelen in de landbouw. Uitgegeven in opdracht van Stichting Bovalpers te Utrecht door H. Veenman en Zonen N.V., Wageningen. 2e druk, 1956. Ing. f 3,90 (reductie, als 20, 30, 50 of meer ex. worden afgenomen).

Dit aantrekkelijke boekje vindt zijn oorsprong in een cursus, georganiseerd door de Bond van Agrarische Loonbedrijven in Nederland en gehouden binnen het kader van de opleiding van landbouwspuiters. Het behandelt in een 12-tal hoofdstukken achtereenvolgens de geleedpotige dieren, de bestrijding van enkele belangrijke dierlijke parasieten, de belangrijkste ziekteverwekkende bacteriën en schimmels in de landbouw, de anorganische oorzaken van ziekten bij landbouwgewassen, de bestrijdingsmiddelen, te weten de insektendodende en de schimmeldodende middelen, de onkruidbestrijdingsmiddelen (algemene en selectief-werkende), de groeistoffen en de overige selectief-werkende middelen, de mogelijkheid van bestrijding der verschillende onkruiden en een aantal middelen die niet in een der vorige hoofdstukken zijn ondergebracht; het geeft tenslotte in een tabel aanwijzingen voor de bestrijding van de belangrijkste ziekten en plagen in landbouwgewassen. Het werkje besluit met een uitgebreide vragenlijst.

Het boekje, geïllustreerd met een aantal foto's, genomen door de Plantenziektenkundige Dienst, is vlot en helder geschreven. Het geeft de lezer een uitstekend overzicht van de mogelijkheden van bestrijding van de organismen, die onze landbouwgewassen belagen en bevat niet alleen voor landbouwspuiters, doch voor allen, die geïnteresseerd zijn in de bestrijding van ziekten en plagen in de landbouw vele belangrijke gegevens. Jammer is het, dat in dit boekje geen aandacht is besteed aan de apparatuur en de techniek van de bestrijding, hetgeen men, de titel van het boekje in aanmerking nemend, eigenlijk wel zou verwachten. In de titel van het Hoofdstuk II, nl. „de bestrijding van enkele belangrijke dierlijke parasieten" kan men in een volgende uitgave het woord „parasieten" beter vervangen door „vijanden", daar men de meeste der hierin behandelde organismen (o.a. emelten, ritnaalden, engerlingen, slakken, ratten, muizen en mollen) moeilijk parasieten kan noemen. DE FLUITER

ERNST GRAM, PROSPER BOVIEN & CHR. STAPEL, Ziekten en plagen van landbouwgewassen. Uitg. H. Veenman en Zonen N.V., Wageningen; 128 blz, 112 kleurenplaten met 720 afb.; prijs geb. f 18,50.

Het is een zeer gelukkig idee van de uitgevers geweest om het Deens standaardwerk „Ziekten en Plagen van Landbouwgewassen" uit te geven als platenatlas, voorzien van een toelichting in de Deense, Engelse en Nederlandse taal. Het werk geeft een fraai overzicht van de ziekten en beschadigingen van granen, grassen, klaver, luzerne en peulvruchten, bieten, koolraap, koolzaad en andere kruisbloemigen, aardappel, wortelen en vlas. Het werk is voorzien van een uitvoerig register in de Deense, Engelse en Nederlandse taal; het bevat tevens een register van de Latijnse namen der ziekteverwekkers. De Nederlandse tekst is verzorgd door de heren J. KORT, Ir. M. M. DE LINT, Ir. H. A. ORMEL, G. VAN ROSSEM en Ir. J. A. J. VEENENBOS van de Plantenziektenkundige Dienst. De aquarellen, vervaardigd door INGEBORG FREDERIKSEN en ELLEN OLSEN zijn over het algemeen zeer geslaagd en geven vrijwel steeds een zeer juist beeld van het ziektesymptoom of de ziekteverwekker. Over de weergave der enkele kleurenfoto's, in het bijzonder die der veldopnamen, kan steller dezes niet zo enthousiast zijn. Het boek wil de landbouwer behulpzaam zijn bij het herkennen van de meest voorkomende ziekten en plagen van landbouwgewassen in Denemarken, ziekten en plagen, die ook in ons land voorkomen.

Als zodanig beschouw ik dit boek uitstekend geslaagd, dank zij de fraaie en natuurgetrouwe, gekleurde afbeeldingen. Het is een waardevolle gids, die ongetwijfeld zijn weg naar de landbouwers zal vinden, doch zeker ook in de bibliotheek van menig instituut of laboratorium thuis hoort. Een bijzondere plaats verdient het boek zeker in de bibliotheek van onderwijsinstellingen op landbouwkundig gebied, daar het daar voortreffelijk kan dienen ter illustratie van het gesproken woord.

DE FLUITER